



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019
La Blanche Island Otel BODRUM

www.tbgk2019.org

KONGRE KİTABI

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

ConPlus Kongre Organizasyon ve Danışmanlık Hizmetleri
Mera Çıkmazı Sok. No:29 Çubuklu – Beykoz /İstanbul
Tel: +90 216 541 00 54 Faks: +90 216 541 01 08
E-Mail: info@conplus.org





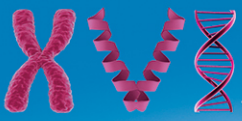
**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



XVI. TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK KONGRESİ

27 – 30 Ekim 2019 Güvercinlik / Bodrum

BU KONGRE TÜBİTAK TARAFINDAN DESTEKLENMİŞTİR.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



KURULLAR

Dernek Yönetim Kurulu

Prof. Dr. Turgut Ulutin (Başkan)

Prof. Dr. Ayşe Özer (II. Başkan)

Prof. Dr. Matem Tunçdemir (Genel Sekreter)

Prof. Dr. Ayhan Deviren (Sayman)

Prof. Dr. Ece Konaç (Üye)

Prof. Dr. Ersan Kalay (Üye)

Prof. Dr. Didem Dayangaç Erden (Üye)

Kongre Başkanı

Prof. Dr. Turgut Ulutin

Kongre Düzenleme Kurulu

Prof. Dr. Turgut ULUTİN (Kongre Başkanı)

Prof. Dr. Matem TUNÇDEMİR (Düzenleme Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. Ece KONAÇ (Bilim Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. Selma YILMAZER

Prof. Dr. Didem DAYANGAÇ ERDEN

Doç. Dr. Erdinç DURSUN

Doç. Dr. Duygu GEZEN AK

Doç. Dr. Hacer İlke ÖNEN

Doç. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM

Dr. Öğr. Üyesi Nuray VAROL

Kongre Bilim Kurulu

Prof. Dr. Ece Konaç (Bilim Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. Mustafa Akkiprik

Prof. Dr. Hamiyet Altuntaş

Prof. Dr. Neşe Atabey

Prof. Dr. Belgin Ataç

Prof. Dr. Sibel Oğuzkan Balcı

Prof. Dr. Didem Turgut Coşan

Prof. Dr. Gülşah Çeçener

Prof. Dr. Utkan Demirci (USA)

Prof. Dr. Ayhan Deviren

Prof. Dr. Stefan Dimitrov (TR)

Prof. Dr. Didem Dayangaç Erden

Doç. Dr. Tuba Edgünlü

Prof. Dr. Suat Erdoğan

Prof. Dr. Cumhuriyet Gündüz

Prof. Dr. Ersan Kalay

Prof. Dr. Nurten Kara

Dr. Gonca Emel Karahan (HOLLANDA)

Prof. Dr. Deniz Kırık (İSVEÇ)

Prof. Dr. Sefa Kızıldağ

Prof. Elissaveta Naumova (BULGARİSTAN)

Prof. Dr. Banu Onaral (USA)

Prof. Dr. Fatma Savran Oğuz

Prof. Dr. Ayşe Özer

Prof. Dr. Meral Özgüç

Prof. Dr. Melek Öztürk

Prof. Dr. Antoine H.F.M. Peters (İSVİÇRE)

Prof. Dr. Asa Petersen (İSVEÇ)

Prof. Dr. Nedime Serakinci

Prof. Dr. Ahter Şanlıoğlu

Prof. Dr. Niels Tommerup (DANİMARKA)

Prof. Dr. Matem Tunçdemir

Prof. Dr. Turgut Ulutin

Prof. Dr. Adre J. Van Wijnen (USA)

Prof. Dr. Cengiz Yakicier

Prof. Dr. Selma Yilmazer

**Soyadı alfabetik sıralanmıştır.*



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



27 Ekim 2019 Pazar / 27 October 2019 Sunday

SALON A - HALL A

SALON B - HALL B

10:00 - 10:15	AÇILIŞ TÖRENİ / OPENING CEREMONY			
KONFERANS 1 / CONFERENCE 1: KANSER / CANCER				
Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. TURGUT ULUTİN, Prof. Dr. ECE KONAÇ				
10:15 - 11:00	Prof. Dr. UTKAN DEMİRCİ Microfluidic sorting of sperm for applications in assisted reproductive technologies			
PANEL 1 / PANEL 1: KANSER / CANCER				
Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. AYŞE ÖZER, Prof. Dr. ERSAN KALAY				
11:00 - 11:30	Prof. Dr. NEŞE ATABEY Metastazda ekstrasvazyon, organ tercihi ve tedavi yanıtı mekanizmalarının araştırılmasında Mikroakışkan 3D ko-kültür yaklaşımları / <i>Microfluidic 3D co-culture approaches for investigating organ preference and treatment response in tumor metastasis</i>			
11:30 - 12:00	Prof. Dr. SUAT ERDOĞAN Kanser kök hücrelerinin terapi direnci, tümör nüksü ve kanser tedavisindeki önemi / <i>Cancer stem cells in drug resistance, tumor recurrence and their therapeutic implications in cancer treatment</i>			
12:00 - 12:30	Dr. Öğr. Üye. MURAT ALPER CEVHER Potansiyel terapötik geliştirmek için mediator-ER etkileşimini belirlemeye yönelik multibakülovirüs yapılanma yaklaşımı / <i>A Reconstitution Approach Towards Characterizing Mediator-ER Interaction for Potential Therapeutics</i>			
12:30 - 13:30	ÖĞLE YEMEĞİ / LUNCH			
KONFERANS 2 / CONFERENCE 2: EPIGENETİK / EPIGENETICS				
Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. MEHMET ÖZTÜRK				
13:30 - 14:15	Prof. Dr. STEFAN DIMITROV Epigenetics: Mechanisms and Diseases			
KONFERANS 3 / CONFERENCE 3: EPIGENETİK / EPIGENETICS				
Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. SUAT ERDOĞAN				
14:15 - 15:00	Prof. Dr. ANTOINE H.F.M. PETERS Epigenetic control of germ line and early embryonic development			
15:00 - 15:15	KAHVE ARASI ve POSTER ZİYARETLERİ / COFFEE BREAK and POSTER VISITS			
PANEL 2 / PANEL 2: EPIGENETİK / EPIGENETICS				
Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. AYHAN DEVİREN, Prof. Dr. AHTER ŞANLIOĞLU				
15:15 - 15:45	Dr. SERAP ERKEK Mesane Kanserlerinde Epigenetik Düzenlenmeler / <i>Epigenetic regulation in bladder cancer</i>			
15:45 - 16:15	Dr. TUĞBA BAĞCI ÖNDER Kanserlerde terapi direncinin epigenetik mekanizmaları / <i>Epigenetic mechanisms of therapy resistance in cancers</i>			
KONFERANS 4 / CONFERENCE 4: TEMEL TIPTA İNOVASYON 1 / INNOVATION in BASIC MEDICINE 1				
Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. MUSTAFA AKKİPRİK				
16:15 - 17:00	Prof. Dr. BURÇİN ÜNLÜ Fotoakustik ve akustik mikroskopinin tıptaki uygulamaları / <i>Photoacoustic and acoustic microscopy applications in medicine</i>			
KANSER				
SERBEST BİLDİRİLER 3 / ORAL PRESENTATIONS 3				
Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. HAKAN AKÇA, Doç. Dr. ÇİĞDEM KEKİK ÇINAR				
17:00 - 18:30	SS-023	SS-027	SS-031	SS-035
	SS-024	SS-028	SS-032	
	SS-025	SS-029	SS-033	
	SS-026	SS-030	SS-034	
19:00	AÇILIŞ KOKTEYLİ / WELCOME COCKTAILS			

HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ & ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI

SERBEST BİLDİRİLER 1 / ORAL PRESENTATIONS 1

Oturum Başkanları / Session Chairmans: **Prof. Dr. GÜLSEREN BAĞCI, Doç. Dr. İLKE ÖNEN**

11:00 - 12:40	SS-001
	SS-002
	SS-003
	SS-004
	SS-005
	SS-006
	SS-007
	SS-008
	SS-009
	SS-010
	SS-012
	SS-013
	SS-014

DİĞER	
SERBEST BİLDİRİLER 2 / ORAL PRESENTATIONS 2	
Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. AYŞE GAYE TOMATIR, Doç. Dr. ERDİNÇ DURSUN	
15:15 - 16:15	SS-015
	SS-021
	SS-016
	SS-022
	SS-017
	SS-018
	SS-019
	SS-020

İMMUNOLOJİ-İMMUNOGENETİK & ETİK VE HUKUK & TEMEL TIPTA İNOVASYON & DİĞER			
SERBEST BİLDİRİLER 4 / ORAL PRESENTATIONS 4			
Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. DİDEM DAYANGAÇ ERDEM, Doç. Dr. HAYRİYE ŞENTÜRK ÇİFTÇİ			
17:00 - 18:30	SS-036	SS-040	SS-044
	SS-037	SS-041	SS-045
	SS-038	SS-042	SS-046
	SS-039	SS-043	SS-047



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



28 Ekim 2019 Pazartesi / 28 October 2019 Monday

SALON A - HALL A

KONFERANS 5 / CONFERENCE 5:

HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ / MOLECULAR and GENETIC BASIS of DISEASES

Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. NEŞE ATABEY

09:00 - 09:45 Prof. Dr. NIELSTOMMERUP
Dysregulatory effects of balanced chromosomal rearrangements

KONFERANS 6 / CONFERENCE 6:

MOLEKÜLER SİNİR BİLİM / MOLECULAR NEUROSCIENCE

Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. SELMA YILMAZER

09:45 - 10:30 Prof. Dr. DENİZ KIRIK
Investigating the role of alpha-synuclein in Parkinson's disease

10:30 - 11:00 KAHVE ARASI ve POSTER ZİYARETLERİ / COFFEE BREAK and POSTER VISITS

PANEL 3 / PANEL 3:

MOLEKÜLER SİNİR BİLİM / MOLECULAR NEUROSCIENCE

Oturum Başkanları / Session Chairmans:

Prof. Dr. SELMA YILMAZER, Prof. Dr. DİDEM DAYANGAÇ ERDEM

11:00 - 11:30 Prof. Dr. ŞERMİN GENÇ
Ekzozomal mikro RNA'ların santral sinir sistemi'ndeki etkileri / The impact of microRNAs in exosomes in central nervous system

11:30 - 12:00 Prof. Dr. ERDEM TÜZÜN
Dejeneratif sinir sistemi hastalıklarında inflamazom kompleksi /
Inflammasome complex in degenerative nervous system diseases

12:00 - 12:30 Doç. Dr. DUYGU GEZEN AK
Gen regülasyonunda amiloid beta 1-42: Alzheimer patolojisine farklı bir
bakış / Amyloid beta 1-42 in gene regulation: A different view of Alzheimer's
pathology

12:30 - 13:30 ÖĞLE YEMEĞİ / LUNCH

GENÇ ARAŞTIRMACI SUNUMLARI / YOUNG RESEARCHERS' PRESENTATIONS

Oturum Başkanları / Session Chairmans:

Prof. Dr. GÜLŞAH ÇEÇENER, Prof. Dr. ERGÜN PINARBAŞI

13:30 - 15:00 Yasemin Öztumur İslakoğlu - Meme kanseri gelişiminin miRNA temelli ve
biyoinformatik tabanlı özgün sistem biyolojisi algoritmaları ile
değerlendirilmesi

Peyda Korhan - c-Met Sinyal Yoluğunun Hepatokarsinogenez Sürecindeki
Rolü

Ekim Z. Taşkıran - Nadir Hastalıklarda Genomik ve Transkriptomik Bilginin
Entegrasyonu

Uğur Akpulat - Duchenne kas distrofisi'nin ekson-skipping temelli tedavi
etkinliğinin artırılması

Emre Deniz - DNA hasarı yanıtlarında rol alan yeni gen ürünlerinin keşfi

Ahmet Eken - S1P1 reseptörü innate lenfoid hücrelerin (ILC) fonksiyon ve
migrasyonunu etkilemektedir

15:00 - 15:30 KAHVE ARASI ve POSTER ZİYARETLERİ / COFFEE BREAK and POSTER VISITS

PANEL 5 / PANEL 5:

HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ / MOLECULAR and GENETIC BASIS of DISEASES

Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. MÜJGAN CENGİZ, Prof. Dr. SERAP DÖKMECİ

15:30 - 16:00 Prof. Dr. KÖKSAL ÖZGÜL
Tanı konulamayan nadir hastalıklarda araştırma teknolojileri / Research
technologies in undiagnosed rare diseases

16:00 - 16:30 Prof. Dr. DİDEM DAYANGAÇ ERDEM
Hastalık patolojilerinin aydınlatılmasında genomik bilim teknolojilerinin
önemi / Omics Technologies in Understanding Disease Pathologies

16:30 - 17:00 Dr. Öğr. Üye. BARIŞ ETHEM SÜZEK
Yeni nesil sekanslama analizlerinde karşılaşılan güçlükler ve
çözüm yaklaşımları / Challenges in Next Generation Sequencing Analysis
and Solution Approaches

17:30 - 18:30 EMEKLİLİK TÖRENİ / RETIREMENT CEREMONY

SALON B - HALL B

KANSER

SERBEST BİLDİRİLER 5 / ORAL PRESENTATIONS 5

Oturum Başkanları / Session Chairmans:

Prof. Dr. MATEM TUNÇDEMİR, Doç. Dr. HASİBE VERDİ

09:00 - 10:30 SS-049 SS-053 SS-057 SS-061
SS-050 SS-054 SS-058
SS-051 SS-055 SS-059
SS-052 SS-056 SS-060

PANEL 4 / PANEL 4:

GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ / GENE and CELL THERAPY

Oturum Başkanları / Session Chairmans:

Prof. Dr. VEYSEL SABRİ HANÇER, Prof. Dr. SULTAN CİNGÖZ

11:00 - 11:30 Prof. Dr. AHTER DİLŞAD ŞANLIOĞLU
Beta hücre benzeri insülin üreten hücre oluşturulmasında güçlendirici
mekanizmalar / Mechanisms for Improvement of Beta Cell-Like Insulin-
Producing Cell Generation

11:30 - 12:00 Prof. Dr. SİBEL OĞUZKAN BALCI
Deneyel obesitede bilişsel performansa moleküler yaklaşım / Molecular
approach to cognitive performance in experimental obesity

12:00 - 12:30 Dr. Öğr. Üye. BAHADIR BATAR
İyonize radyasyon tedavisi yanıt olarak hücre sağkalımı/ölümü / Cell
survival/death in response to ionizing radiation therapy

KANSER

SERBEST BİLDİRİLER 6 / ORAL PRESENTATIONS 6

Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. NURTEN KARA, Doç. Dr. HASAN DOĞAN

13:30 - 15:00 SS-062
SS-063
SS-064
SS-065
SS-066
SS-068
SS-069
SS-070
SS-071
SS-072
SS-073
SS-074

KONFERANS 7 / CONFERENCE 7:

İMMUNOBİYOLOJİ-İMMUNOGENETİK / IMMUNOBIOLOGY-IMMUNOGENETICS

Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. FATMA OĞUZ SAVRAN

15:30 - 16:15 Prof. Dr. ELISSAVETA NAUMOVA
NK cell receptors-basic concepts and clinical implications

PANEL 6 / PANEL 6:

İMMUNOBİYOLOJİ-İMMUNOGENETİK / IMMUNOBIOLOGY-IMMUNOGENETICS

Oturum Başkanları / Session Chairmans: Prof. Dr. HAKAN AKÇA, Prof. Dr. NURTEN KARA

16:15 - 16:45 Prof. Dr. FATMA OĞUZ SAVRAN
Nasıl sunduğun değil... Ne sunduğun Önemli ; MHC molekülleri / It's not
how you present... Important what you offer; MHC molecules

16:45 - 17:15 Dr. GONCA EMEL KARAHAN
Transplantasyonda Hafıza Hücrelerinin rolü / The role of memory cells in
transplantation



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



29 Ekim 2019 Salı / 29 October 2019 Tuesday

SALON A - HALL A

KONFERANS 8 / CONFERENCE 8:

TEMEL TIPTA İNOVASYON 2 / INNOVATION in BASIC MEDICINE 2

Oturum Başkanı / Session Chairman : Prof. Dr. MEHMET ÖZTÜRK

09:00 - 09:45 **Prof. Dr. BANU ONARAL**
Commercialization journey of academic innovation that break new ground in medicine

09:45 - 10:15 **KAHVE ARASI ve POSTER ZİYARETLERİ / COFFEE BREAK and POSTER VISITS**

SUNUM 1 / LECTURE 1:

HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ / CELL AGING and DEATH

Oturum Başkanı / Session Chairman : Prof. Dr. CUMHUR GÜNDÜZ

10:15 - 10:45 **Prof. Dr. SEMRA KOÇTÜRK**
Hücre ölümünde doğal polifenollerin rolü ve antikanser etkileri / The role of natural polyphenols in cell death and anticancer effects

PANEL 7 / PANEL 7:

HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ / CELL AGING and DEATH

Oturum Başkanları / Session Chairmans : Prof. Dr. MELEK ÖZTÜRK, Prof. Dr. SEFA KIZILDAĞ

10:45 - 11:15 **Doç. Dr. FATMA KAYA DAĞISTANLI**
Deneyisel karaciğer hasar modelleri ve hücre ölümü / Experimental Liver Injury Models and Cell Death

11:15 - 11:45 **Doç. Dr. CEYDA AÇILAN AYHAN**
Kanser hücrelerini hedefli öldürmek amacıyla kanser hücrelerine özgü anomalilerin kullanılması / Use of cancer cell-specific anomalies to target killing of cancer cells

HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ & DİĞER

SERBEST BİLDİRİLER 7 / ORAL PRESENTATIONS 7

Oturum Başkanları / Session Chairmans :

Doç. Dr. MERAL URHAN KÜÇÜK, Doç. Dr. ATİYE SEDA YAR SAĞLAM

11:45 - 12:45 **SS-075 SS-079**
SS-076 SS-080
SS-077 SS-081
SS-078 SS-011

12:45 - 13:30 **ÖĞLEYEMEĞİ / LUNCH**

KONFERANS 9 / CONFERENCE 9:

GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ / GENE and CELL THERAPY

Oturum Başkanı / Session Chairman : Prof. Dr. DİDEM TURGUT COŞAN

13:30 - 14:15 **Prof. Dr. ANDRE J. VAN WIJNEN**
Molecular strategies for musculoskeletal tissue regeneration

KONFERANS 10 / CONFERENCE 10:

KÖK HÜCRE / STEM CELL

Oturum Başkanı / Session Chairman : Prof. Dr. CENGİZ YAKICIER

14:15 - 15:00 **Prof. Dr. ERDAL KARAÖZ**
Stem cell-based therapies for neuro-muscular degenerative disorders: today and tomorrow

15:00 - 15:30

KAHVE ARASI ve POSTER ZİYARETLERİ / COFFEE BREAK and POSTER VISITS

SALON B - HALL B

SUNUM 2 / LECTURE 2:

GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ / GENE and CELL THERAPY

Oturum Başkanı / Session Chairman : Prof. Dr. SALİH ŞANLIOĞLU

10:15 - 10:45 **Prof. Dr. NEDİME SERAKINCI**
Modelling herbal essential oils as a cancer therapeutic tool

SUNUM 3 / LECTURE 3:

GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ / GENE and CELL THERAPY

Oturum Başkanı / Session Chairman : Prof. Dr. NEDİME SERAKINCI

10:45 - 11:15 **Prof. Dr. SALİH ŞANLIOĞLU**
İnsülin gen tedavisinde güncel gelişmeler / Current progress in insulin gene therapy

SUNUM 4 / LECTURE 4:

MOLEKÜLER SİNİR BİLİM / MOLECULAR NEUROSCIENCE

Oturum Başkanı: Prof. Dr. BELGİN ATAÇ

11:15 - 11:45 **Prof. Dr. ASA PETERSEN**
Non-motor features and hypothalamic pathology in Huntington disease

GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ & EPİGENETİK

SERBEST BİLDİRİLER 8 / ORAL PRESENTATIONS 8

Oturum Başkanları / Session Chairmans: **Doç. Dr. NACİ ÇİNE, Doç. Dr. EBRU ALP**

11:45 - 12:45 **SS-082 SS-086**
SS-083 SS-087
SS-084 SS-088
SS-085

MOLEKÜLER SİNİR BİLİM

SERBEST BİLDİRİLER 9 / ORAL PRESENTATIONS 9

Oturum Başkanları / Session Chairmans:

Doç. Dr. DUYGU GEZEN AK, Doç. Dr. TUBA EDGÜNLÜ

14:15 - 15:00 **SS-089 SS-093**
SS-090 SS-094
SS-091
SS-092



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



29 Ekim 2019 Salı / 29 October 2019 Tuesday

SUNUM 5 / LECTURE 5: KÖK HÜCRE / STEM CELL Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. AYŞE ÖZER 15:30 - 16:00 Prof. Dr. CENGİZ YAKICIER Kanser kök hücreleri / Cancer stem cells	KÖK HÜCRE SERBEST BİLDİRİLER 10 / ORAL PRESENTATIONS 10 Oturum Başkanları / Session Chairmans: Doç. Dr. AYŞE ÇIRAKOĞLU, Doç. Dr. GİZEM DÖNMEZ YALÇIN 15:30 - 16:00 SS-095 SS-099 SS-096 SS-097 SS-098
KONFERANS 11 / CONFERENCE 11: KÖK HÜCRE / STEM CELL Oturum Başkanı / Session Chairman : Prof. Dr. MATEM TUNÇDEMİR 16:00 - 16:45 Prof. Dr. CAN AKÇALI Mezenkimal kök hücreler: araştırmadan kliniğe / Mesenchymal stem cells: from the lab to the clinic	
SUNUM 6 / LECTURE 6: ETİK ve HUKUK / ETHICS and LAW Oturum Başkanı / Session Chairmans : Prof. Dr. MERAL ÖZGÜÇ 16:45 - 17:15 Prof. Dr. HAKAN ORER Sentetik biyoloji çağında bir enstrüman olarak biyoetik / Bioethics as an instrument in the era of synthetic biology	
SÖYLEŞİ / CONVERSATION: 21. YÜZYILDA KANSERLE YAŞAMAK Oturum Başkanı / Session Chairman: Prof. Dr. SENİHA HACIHANEFİOĞLU 17:15 - 17:45 Prof. Dr. AHMET ERÖZENCİ	
20:00	CUMHURİYET BALOSU ve XVI. TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK KONGRESİ ÖDÜL TÖRENİ / REPUBLIC DAY BALL CELEBRATION and XVI. MEDICAL BIOLOGY AND GENETICS CONGRESS AWARD CEREMONY



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 Lo Blanche Island Otel BODRUM



30 Ekim 2019 Çarşamba / 30 October 2019 Wednesday

SALON A - HALL A

SUNUM 7 / LECTURE 7:

ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI / ORGANEL PATHOLOGY and DISEASES

Oturum Başkanı / Session Chairman: **Prof. Dr. AYFER PAZARBAŞI**

09:30 - 10:15 **Dr. Öğr. Üye. ELİF NUR FIRAT KARALAR**
Sentrozom ve silya anomalileri ve silyopatiler arasındaki moleküler ilişkilerin belirlenmesi / *Determination of molecular relationships between centrosomes and cilia anomalies and ciliopathies*

PANEL 8 / PANEL 8:

ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI / ORGANEL PATHOLOGY and DISEASES

Oturum Başkanları / Session Chairmans:

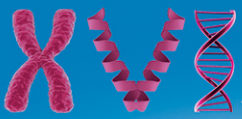
Prof. Dr. SERAP DÖKMECİ, Prof. Dr. HAMİYET ALTUNTAŞ

10:15 - 10:45 **Doç. Dr. BURCU BALCI HAYTA**
Nöromusküler Hastalıkların Patogenezinde Mitokondri Hasarının Önemi / *The Role of Mitochondrial Dysfunction in Pathogenesis of Neuromuscular Disorders*

10:45 - 11:15 **Doç. Dr. ÖZLEM KUTLU**
Nadir Hastalıkların Patogenezinde Otofajik-Lizozomal Degradasyon Hataları / *Autophagic-Lysosomal Degradation Errors in the Pathogenesis of Rare*

11:15 **KAPANIŞ KONUŞMASI / CLOSING CEREMONY**

SALON B - HALL B



PROF. DR. ALTAN GÜNALP ARAŞTIRMA ÖDÜLÜ POSTER NUMARALARI

AGAÖ – P01 \ Mükerrem Hale TAŞYÜREK

Therapeutic Potential of Lentivirus-Mediated Glucagon-Like Peptide-1 Gene Therapy for Diabetes

AGAÖ – P02 \ Mükerrem Hale TAŞYÜREK

HIV-based lentivirus-mediated vasoactive intestinal peptide gene delivery protects against DIO animal model of Type 2 diabetes

AGAÖ – P03 \ Fatma Kübra TOMBULTÜRK

Regulation of MMP 2 and MMP 9 expressions modulated by AP-1 (c-jun) in wound healing: improving role of *Lucilia sericata* in diabetic rats

AGAÖ – P04 \ Gamze GÜney ESKİLER

Synthetically Lethal BMN 673 (Talazoparib) Loaded Solid Lipid Nanoparticles for BRCA1 Mutant Triple Negative Breast Cancer

AGAÖ – P05 \ Senem NOYAN

Involvement of miR-770-5p in trastuzumab response in HER2 positive breast cancer cells

AGAÖ – P06 \ Metin ÇALIŞKAN

Chronic tinnitus and BDNF/GDNF CpG promoter methylations: a case-control study

AGAÖ – P07 \ Naci ÇİNE

TP53, EGFR and PIK3CA gene variations observed as prominent biomarkers in breast and lung cancer by plasma cell-free DNA genomic testing

AGAÖ – P08 \ Gizem ÖNAL

Impairment of lipophagy by PNPLA1 mutations causes lipid droplet accumulation in primary fibroblasts of Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis patients

AGAÖ – P09 \ Tuğçe BALCI OKCANOĞLU

Effect of CCT137690 on long non-coding RNA expression profiles in MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines

AGAÖ – P010 \ Diğdem YÖNEN ERMİŞ

Myeloid maturation potentiates STAT3-mediated atypical IFN- γ signaling and upregulation of PD-1 ligands in AML and MDS

AGAÖ – P011 \ Sunde YILMAZ SÜSLÜER

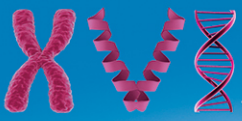
Analysis of long non-coding RNA (lncRNA) expression in hepatitis B patients

AGAÖ – P012 \ Hakan AKÇA

TGF- β –SMAD–miR-520e axis regulates NSCLC metastasis through a TGFBR2-mediated negative-feedback loop

AGAÖ – P013 \ Ayşe Gaye TOMATIR

MYC-driven regulation of long non-coding RNA profiles in breast cancer cells



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



28 Ekim 2019 Pazartesi

13:30 - 15:00

GENÇ ARAŞTIRMACI SUNUMLARI

Oturum Başkanı - Prof. Dr. GÜLŞAH ÇEÇENER, Prof. Dr. ERGÜN PINARBAŞI

SUNUM 1

Yasemin Öztemur Islakoğlu

Meme kanseri gelişiminin miRNA temelli ve biyoinformatik tabanlı özgün sistem biyolojisi algoritmaları ile değerlendirilmesi

SUNUM 2

Peyda Korhan

c-Met Sinyal Yolağının Hepatokarsinogenez Sürecindeki Rolü

SUNUM 3

Ekim Z. Taşkiran

Nadir Hastalıklarda Genomik ve Transkriptomik Bilginin Entegrasyonu

SUNUM 4

Uğur Akpulat

Duchenne kas distrofisi'nin ekson-skipping temelli tedavi etkinliğinin artırılması

SUNUM 5

Emre Deniz

DNA hasarı yanıtlarında rol alan yeni gen ürünlerinin keşfi

SUNUM 6

Ahmet Eken

S1P1 reseptörü innate lenfoid hücrelerin (ILC) fonksiyon ve migrasyonunu etkilemektedir

KONGRE SEKRETERYASI

Kongre Başkanı
Prof. Dr. Turgut Ulutin

Bilim Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Ece Konaç

Düzenleme Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Matem Tunçdemir

TBGDER YÖNETİM KURULU

Prof. Dr. Turgut Ulutin (Başkan)
Prof. Dr. Ayşe Özer (II. Başkan)
Prof. Dr. Matem Tunçdemir (Genel Sekreter)
Prof. Dr. Ayhan Deviren (Sayman)
Prof. Dr. Ece Konaç (Üye)
Prof. Dr. Ersan Kalay (Üye)
Prof. Dr. Didem Davanoğlu Erden (Üye)

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

ConPlus Kongre & Organizasyon
Mera Çıkmaz Sok. No:29 Çubuklu - Beykoz / İstanbul
Tel: 0 216 541 00 54 Fax: 0 216 541 01 08
E-mail: sekreteryas@tbkgk2019.org

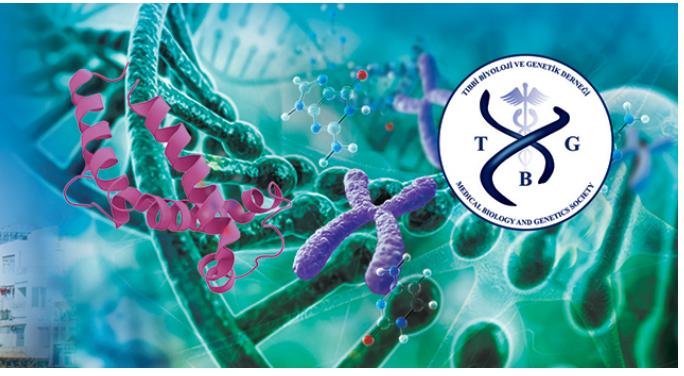
www.tbkgk2019.org



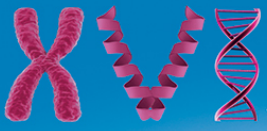
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel *BODRUM*



DAVETLİ KONUŞMACILAR



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Ahmet Erözenci

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul

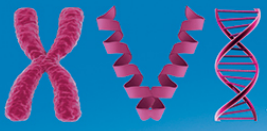
Prof. Dr. N. Ahmet Erözenci Cerrahpaşa Tıp Fakültesini bitirdikten sonra aynı fakültenin Üroloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimini tamamlamış, 1993'de Doçent, 1999'da profesör olmuştur. Kariyerinin bir bölümünde M.D.Anderson Cancer Insititute'de çalışmış olan Erözenci, halen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı başkanlığı görevini sürdürmektedir.

Tıp dışında edebiyat ve fotoğrafçılıkla ilgilenen Erözenci'nin yayımlanmış 11 romanı vardır.

Ahmet Erözenci bugünkü konuşmasında 1986-2019 yılları arasında geçirdiği 3.75 kanserin (Evre IV Hodgkin, Tiroid, Prostat, Cilt) yaşamını nasıl güzelleştirdiğinden ve kanserin kendisine öğrettiklerinden bahsedecektir.

After graduating from Cerrahpaşa Medical School Dr. Erözenci has completed his residency in the same institution. He has received his Assistant Professorship in 1993 and has been appointed as a Professor in 1999. He has attended M.D. Anderson Cancer Institute in 1987 and is currently the head of the urology department at Cerrahpaşa Medical School. His hobbies are photography and literature and he has 11 published novels.

In today's talk, Prof. Erözenci will cover how the 3.75 cancers (Stage IV Hodgkin's disease, Thyroid, Prostate, Skin) has made his life better and what having cancer has taught him.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Ahter Dilşad Şanlıoğlu

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Antalya

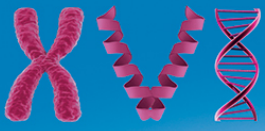
Prof. Dr. Ahter Dilşad ŞANLIOĞLU, lisans eğitimini Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde, doktora eğitimini 2005 yılında Akdeniz Üniversitesi Gen Tedavi Ünitesi (Gen ve Hücre Tedavisi Uygulama ve Araştırma Merkezi) & Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD'de Tıbbi Genetik alanında tamamladı. Doktora çalışmalarını, ileri evre prostat kanserinde Adenoviral vektör aracılı deneysel TRAIL gen aktarımının apoptotik etkinliği ve ilgili direnç mekanizmalarının kırılmasına yönelik stratejiler üzerine gerçekleştirdi. Mevcut çalışmalarını ağırlıklı olarak TRAIL molekülünün diyabetteki rolü ve olası terapötik potansiyeli, diyabette Lentiviral vektör temelli deneysel gen tedavi yaklaşımları, ve pankreatik beta hücre kompensasyonuna yönelik yaklaşımlar üzerine sürdürmektedir.

Prof. Dr. Ahter Dilsad Sanlioglu has completed her undergraduate study in Akdeniz University Faculty of Sciences, Department of Biology, and received her PhD degree in Medical Genetics, in Akdeniz University Gene Therapy Unit (Center for Gene and Cell Therapy) & Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, in 2005. Her PhD work covered assessment of the therapeutic potential of Adenoviral vector-mediated experimental TRAIL gene delivery in advanced prostate cancer, and strategies for breaking related resistance. Her current studies are focused primarily on role and possible therapeutic potential of TRAIL in diabetes, Lentiviral vector-mediated experimental gene therapy approaches in diabetes, and pancreatic beta cell compensation mechanisms.

Beta Hücresi Benzeri İnsülin Üreten Hücre Oluşturulmasında Güçlendirici Mekanizmalar

Diyabette gelişen beta hücre kaybının/disfonksiyonunun telafi edilebilmesi amacıyla farklı kaynaklardan pankreatik beta hücresi benzeri İnsülin Üreten Hücreler'in (İÜHler) oluşturulma çalışmaları, günümüzde önemli ve kapsamlı bir araştırma alanıdır. Özellikle Tip 1 Diyabet (T1D), tek bir hücre tipinin eksikliği ile ilişkili olması ve telafi sağlayacak hücrelerin hedef organ dışında farklı bölgelere de aktarılabilmesi dolayısıyla, kök hücre temelli replasman yaklaşımları için çok uygun bir hedef hastalık olarak tanımlanmaktadır. Bu kapsamda, uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (uPKHler) taşıdıkları önemli avantajlar dolayısıyla, bugün İÜH oluşturma çalışmalarında en fazla kullanılan hücre kaynakları arasındadır [1]. Ancak halen hem uPKH eldesi, hem de İÜHlere farklılaşma aşamalarında optimum verimlilik ve güvenilirlikte yaklaşımların geliştirilmesi gerekmektedir. Bunun yanında, T1D ile ilişkili uygulamalarda otoimmunitenin varlığı, dikkate alınması gereken önemli noktalardandır. Diyabette uPKH teknolojisine yönelik son gelişmelerle, fonksiyonel İÜHler oluşturulabilmiş, oluşturulan bazı İÜHlerin diyabetik hayvan modellerinde etkinliği araştırılmış, ayrıca T1D'de devam eden otoimmünite için geliştirilen çözümler eşliğinde etkinlikleri denenmiştir; ancak tam etkinlik ve güvenilirlik henüz sağlanamamıştır [2]. İdeal hedef, kişinin kendi hücrelerinden, hızlı ve etkin metodolojilerle sınırsız ve güvenli, tam fonksiyonel ve otoimmüniteye karşı korumalı beta hücre kaynağı oluşturabilmektir. Konuya genel olarak yaklaşıldığında, uPKHlerden köken alan İÜHlerin diyabette sorunsuz olarak kullanılabilmeleri için aşılması gereken önemli sınırlamalar bulunmaktadır.

TNF ile ilişkili Apoptoz-İndükleyici Ligand (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand; TRAIL), grubumuzun ve diğer araştırmacıların çalışmalarında diyabetteki muhtemel koruyucu rolüne dikkat çekilen, immün sistemin önemli bir elemanıdır [3]. Birçok transforme hücre üzerindeki selektif apoptotik etkisi ile gündeme gelen TRAIL'ın insan dokularında yaygın ekspresyonu ve bağlanabildiği 5 farklı reseptör bulunması, henüz tanımlanmamış birçok rolünün olabileceğini düşündürmüştü, ve bu tez birçok farklı çalışma ile kanıtlanmıştır [4]. Diyabetteki muhtemel rolü, TRAIL ifade etmeyen C57BL/6 farelerde çoklu düşük doz STZ uygulaması sonrasında, normal farelere oranla T1D'nin çok daha erken ve şiddetli geliştiğinin gösterilmesi ve TRAIL^{-/-} farelerin diyabet ile ilişkili birçok komplikasyon sergilediğinin ortaya konması ile önem kazanmıştır [5, 6]. Grubumuzun çalışmalarında elde edilen veriler de, TRAIL'ın diyabette sanıldığından çok daha önemli olabileceğine, beta hücreleri üzerinde koruyucu ve hatta proliferatif etki gösterebileceğine işaret etmektedir; bunun yanında, TRAIL'ın İÜH oluşturulmasında da etkili olabileceğini ve anti-inflamatuar özelliği ile yeni üretilen İÜHleri otoimmüniteden koruyabileceğini düşündürmektedir [7, 8]. Konuşmada, ilgili yaklaşımlar ve hipotezlerimiz sunulacaktır (TÜBİTAK Proje No: 218S617, 112S450, ve 107S374).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Mechanisms for Improvement of Beta Cell-Like Insulin-Producing Cell Generation

Studies aiming generation of pancreatic beta cell-like Insulin-Producing Cells (IPCs) from various cell sources for compensation of beta cell loss/dysfunction in diabetes constitute a significant and extensive area of research. Type 1 Diabetes (T1D), being related to only one cell type and allowing transplantation of the compensatory cells to different regions other than the target organ, is particularly defined as a very suitable target disease for stem cell-based replacement approaches. In this context, induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) are among the highly preferred cell sources in IPC generation studies, due to significant advantages they provide [1]. However, approaches with optimal efficiency and safety are still to be developed in generation of both iPSCs and IPCs. Furthermore, presence of ongoing autoimmunity is a significant factor to be taken into consideration in T1D-related applications. Although latest advances in iPSC technology allowed functional IPCs to be produced and tested in diabetic animal models along with various solutions against autoimmunity, full efficiency and safety is yet to be reached [2]. The ideal goal is to generate unlimited, safe, and fully functional new beta cell sources through fast and efficient methodologies, also protected against autoimmunity. Overall, significant limitations still remain for iPSC-derived IPCs to be utilized in diabetes.

TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) is an important member of the immune system, related with a protective role in diabetes through studies of our and other groups [3]. TRAIL has attracted attention with its selective apoptotic effect on many transformed cell types, yet its widespread expression in human tissues and 5 receptors it can bind to have implicated other significant roles, which was proved quite right [4]. Its putative role in diabetes has come up when C57BL/6 mice that did not express TRAIL have developed earlier and more severe T1D following STZ treatment, and TRAIL-/-mice were shown to develop many diabetes-related complications [5, 6]. Our results, as those of other groups, suggest that TRAIL may be much more important in diabetes than previously thought, with a protective and proliferative effect on beta cells. It may even serve as a fine tune regulator in IPC generation, and may be utilized as a significant weapon against autoimmunity in newly generated IPCs [7, 8]. Related approaches and our hypotheses will be presented in this talk (TUBITAK Project No: 218S617, 112S450, and 107S374).

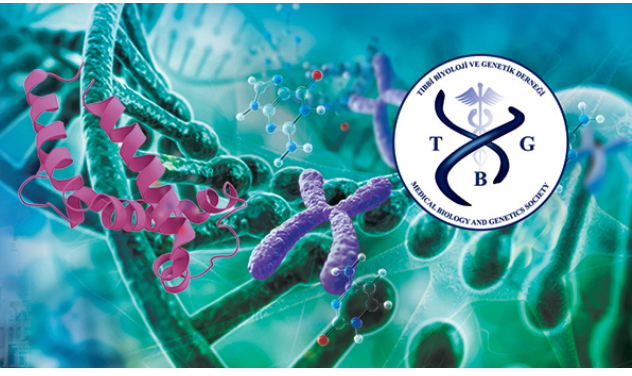
1. Sanlioglu, A.D., Diyarbette Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre (uPKH) Teknolojisi: Hastalık Modeli Olarak Potansiyeli ve Terapötik Yaklaşımlardaki Yeri. Türkiye Klinikleri 2019. Kök Hücre ve Transplantasyon İmmunolojisi Özel Sayısı: p. 1-8.
2. Kroon, E., et al., Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol*, 2008. 26(4): p. 443-52.
3. Wiley, S.R., et al., Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*, 1995. 3(6): p. 673-82.
4. LeBlanc, H.N. and A. Ashkenazi, Apo2L/TRAIL and its death and decoy receptors. *Cell Death Differ*, 2003. 10(1): p. 66-75.
5. Lamhamedi-Cherradi, S.E., et al., Critical roles of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in type 1 diabetes. *Diabetes*, 2003. 52(9): p. 2274-8.
6. Di Bartolo, B.A., et al., TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) protects against diabetes and atherosclerosis in Apoe / mice. *Diabetologia*, 2011. 54(12): p. 3157-67.
7. Dirice, E., et al., Adenovirus-mediated TRAIL gene (Ad5hTRAIL) delivery into pancreatic islets prolongs normoglycemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hum Gene Ther*, 2009. 20(10): p. 1177-89.
8. Dirice, E., et al., TRAIL and DcR1 expressions are differentially regulated in the pancreatic islets of STZ- versus CY-applied NOD mice. *Exp Diabetes Res*, 2011. 2011: p. 625813.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



Andre J. van Wijnen
Mayo Clinic- USA

Dr. Andre van Wijnen received pre-doctoral training in molecular biology and biochemistry at the University of Utrecht, Netherlands, in conjunction with the University of Florida, Gainesville, FL. He graduated with a doctoral degree in Biomedical Sciences from the University of Massachusetts Medical School where he ascended the academic track to the rank of Professor. In 2012, he started a new translational research laboratory at Mayo Clinic focusing on musculoskeletal disorders and stem cell therapies. From a fundamental perspective, his research group focuses on projects that examine biological and mechanistic questions fundamental to regulation and deregulation of bone and cartilage development using state-of-the-art approaches including genomics, epigenomics, proteomics, and mouse genetics.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Asa Petersen

Lund University, Sweden

Professor Åsa Petersén received her PhD in Experimental Neuroscience in 2001 and her MD in 2005 at the Medical Faculty of Lund University, Sweden. She got her first faculty position in 2007 with support from the Swedish Research Council and went on to receive a tenured Lectureship and Professorship in 2012 and 2016, respectively. Petersén has combined her research positions with clinical training in psychiatry and now holds a combined position as Professor of Neuroscience at Lund University and Senior Consultant in Psychiatry. She is the head of the Excellence Center of Huntington Disease (HD) at Lund University and leads the clinical HD team at the Neurology clinic at Skane University Hospital in Lund. She is an Associate Editor for the Journal of Huntington disease.

Petersén has published 100 research articles, reviews, book chapters and commentaries. Her research is focused on the fatal neurodegenerative and monogenic Huntington disease for which there is no disease-modifying treatment available. HD has previously been considered a movement disorder with selective basal ganglia pathology. It is now well known that HD patients manifest with early non-motor features such as psychiatric symptoms, sleep problems and metabolic alterations. Petersén's hypothesis is that hypothalamic dysfunction is involved in causing the early non-motor features of HD. She has published pioneering studies showing loss of the neuropeptides orexin (hypocretin) and oxytocin in the hypothalamus of patients and animal models of HD as well as casual links between hypothalamic dysfunction and non-motor features in HD mice. Her studies have also identified early hypothalamic changes in MR images from prodromal HD as well as alterations in key emotion and metabolism regulating genes in postmortem human HD hypothalami. This research has awarded Petersen (together with Prof Kirik) the Maria and Allan Myers Fellow distinction at the Florey Neuroscience Institute, Melbourne, Australia in 2010 and the prestigious Fernstrom Foundation award at Lund University in 2018.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Bahadır Batar

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

Bahadır Batar, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi olarak görev yapmaktadır. Dr. Bahadır Batar 2013 yılında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktorasını tamamladı. 2014 yılında TÜBİTAK ve Ohio State Üniversitesi Pelotonia Fellowship Programı tarafından doktora sonrası bursları ile ödüllendirildi ve doktora sonrası araştırmalarını 2014-2016 yılları arasında Ohio State Üniversitesi Kanser Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirdi. Doktora sonrası araştırmacı olarak, Prof. Kay Huebner'in araştırma laboratuvarında çeşitli tip kanserlerin gelişiminde ve ilerlemesinde FHIT ve WWOX fragil genlerinin kayıplarının rolünün anlaşılması konulu projelerde çalıştı. Dr. Bahadır Batar özellikle kanser gelişiminin ve kanser tedavisine direncin moleküler temeli konularında araştırmalar yapmaktadır. Son araştırmasını Wwox ifade etmeyen meme kanseri hücrelerinde cisplatin direnç gelişimini arttıran mikroRNA profillerinin ve mikroRNA hedef genlerinin tanımlanması konusu kapsamında yürütmektedir.

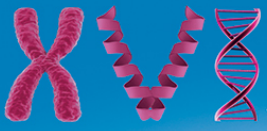
Bahadır Batar is an assistant professor at the Department of Medical Biology of Tekirdağ Namık Kemal University Medical School. He received his Ph.D. in Medical Biology from Cerrahpasa School of Medicine in 2013. In 2014, he was awarded postdoctoral fellowships by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) and from the Ohio State University Postdoctoral Pelotonia Fellowship Program. He did his postdoctoral work at the Ohio State University Comprehensive Cancer Center from 2014 to 2016. As a postdoctoral researcher, Dr. Batar worked on projects to understand the role of loss of the FHIT and WWOX fragile genes in initiation and progression of cancers of several types in Dr. Kay Huebner's research laboratory. His primary research interest is to investigate the molecular basis of cancer development and cancer therapy resistant. His recent research is focused on identifying the microRNA profiles and target genes of microRNAs promote to the development of cisplatin resistance in Wwox-deficient breast cancer cells.

İyonize radyasyon tedavisi yanıt olarak hücre sağkalımı/ölümü

WWOX, kromozomal fragil bölge (CFS) FRA16D'de bulunan bir tümör baskılayıcı gendir. CFS'ler replikasyon stresinde kırılmaya ve delesyona yatkın kromozomal bölgelerdir. Çeşitli insan kanserlerinde Wwox ifadesi azalmış veya kaybolmuştur ve genellikle daha ileri evrelerle ilişkilidir. WWOX dahil olmak üzere CFS'deki genlerin kaybı, insan kanserlerinde tüm delesyonların yaklaşık yarısını oluşturur. Son zamanlarda, iyonize radyasyon (IR) sonrasında ATM kontrol noktasının tam aktivasyonunda Wwox'ın rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmada, Wwox'un çift zincir kırığı (DSB) onarım yollarındaki rolünü daha iyi değerlendirmekle ilgilendik. Çalışmanın amacı, Wwox'un DSB onarım yollarının etkinliğine katkısını belirlemek ve bu onarım yolundaki değişikliklerin sağkalım artışından sorumlu olduğunu göstermekti. DSB onarımı reporter, klonojenite ve co-immünopresipitasyon testleri gerçekleştirildi. Sonuçlarımız Wwox knockout ve susturulmuş hücrelerin yüksek dozlarda IR ve bleomisin'e sağkalımı arttırdığını ortaya koydu. Wwox eksikliği bulunan HeLa ve HEK293 hücrelerinde artmış HDR gösterildi. HDR için kritik bir protein olan Rad51'in susturulmasından sonra, Wwox ifade etmeyen hücreler radyasyona karşı tekrar hassaslaştırıldı. Wwox eksikliğinin Alt-NHEJ veya C-NHEJ onarımını önemli ölçüde değiştirmediği gözlemlendi. Deneysel sonuçlar, azalmış Wwox ifadesinin DSB onarımını düzensizleştirdiğini, muhtemel mutajenik onarımın etkinliğini arttırdığını ve radyasyon tedavisi direncini sağladığını göstermektedir.

Cell survival/death in response to ionizing radiation therapy

WWOX is a tumor suppressor gene located at chromosomal fragile site (CFS) FRA16D. CFSs are chromosomal regions that are prone to breakage and deletions upon replication stress. Reduced or absent Wwox expression occurs in a variety of human cancers, and usually correlates with more advanced stage. The loss of genes at CFS, including WWOX, account for approximately half of all deletions in human cancers. Recently a role has been proposed for Wwox in the complete activation of ATM checkpoint following Ionizing Radiation (IR). In this study, we were interested in more thoroughly evaluating the role of Wwox in double strand break (DSB) repair pathways. The aim of the study was to determine the contribution of Wwox to the efficiency of DSB repair pathways and to demonstrate that alterations in this repair pathway are responsible for increased survival. DSB repair reporter assays, clonogenicity, and co-immunoprecipitation assays were performed. Our results revealed that Wwox knockout and silenced cells exhibit increased survival to high doses of IR and bleomycin. An Improved HDR was shown in Wwox-deficient HeLa and HEK293 cells. Upon silencing of Rad51, a protein critical for HDR, Wwox-deficient cells were resensitized to radiation. Wwox deficiency did not significantly alter Alt-NHEJ or C-NHEJ repair. The experimental results suggest that reduced Wwox expression dysregulates DSB repair, enhancing efficiency of likely mutagenic repair, and enabling radiation treatment resistance.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Barış E. Süzek

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Barış E. Süzek lisans derecesini Orta Doğu Teknik Üniversitesi Bilgisayar Mühendisliği, yüksek lisansını ABD Johns Hopkins Üniversitesi Bilgisayar Bilimleri ve doktoraasını ABD George Mason Üniversitesi Biyoinformatik ve Hesaplamalı Biyoloji bölümlerinde tamamlamıştır. Aralık, 2013'den beri Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi (MSKÜ) Bilgisayar Mühendisliği Bölümünde ve Biyoinformatik Anabilim dalında doktor öğretim üyesi olarak görev yapmaktadır. MSKÜ'deki görevinden önce, Dr. Süzek, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki (ABD) Georgetown Üniversitesi'nde çeşitli akademik görevlerde bulunmuş ve son olarak Georgetown Üniversitesi Tıp Merkezi Biyokimya Bölümündeki yardımcı doçentlik görevinden ayrılarak Türkiye'ye dönmüştür. Dr. Süzek ABD'de Ulusal Kanser Enstitüsü'nün (NCI), ABD'de Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün (NIH) ve Türkiye'de TÜBİTAK'ın desteklediği çeşitli projelerde yürütücü ve araştırmacı olarak görev almıştır. Dr. Süzek'in (H-Index:20) 20'nin üzerinde SCI makalede yazarlığı vardır. Kendisi ABD'de Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından Ulusal Biyomedikal Enformatik Ağı'na yaptığı katkılardan dolayı 2008 yılında Olağanüstü Başarı Ödülü'ne layık görülmüştür. Dr. Süzek Mayıs 2015-Nisan 2018 tarihleri arasında TÜBİTAK TEYDEB Bilgi Teknolojileri Grubu Danışma Kurulu üyeliği ve Ekim 2016-Aralık 2017 tarihleri arasında, T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Kamu-Üniversite-Sanayi İşbirliği Çalışma Grubu üyeliği yapmıştır.

Barış E. Süzek received his B. S. in Computer Engineering from Middle East Technical University, his M. S. in Computer Science from Johns Hopkins University and his Ph. D. in Bioinformatics and Computational Biology from George Mason University, USA. Since December, 2013, he is serving as an Assistant Professor in the Computer Engineering Department and Bioinformatics Program at Muğla Sıtkı Koçman University (MSKU). Prior to his tenure at MSKU, Dr. Süzek has held various academic positions at Georgetown University in the United States of America (USA) and returned to Turkey leaving his final post as an assistant professor in the Department of Biochemistry at Georgetown University Medical Center. Dr. Süzek has served as principal investigator and/or researcher in various projects supported by the National Cancer Institute (NCI) in USA, the National Institute of Health (NIH) in USA and TÜBİTAK in Turkey. Dr. Süzek

(h-index:20) has authorship in over 20 SCI articles. He was awarded the Outstanding Achievement Award in 2008 by the National Cancer Institute (NCI) in USA for his contributions to the National Biomedical Informatics Grid. Dr. Süzek was a member of the Advisory Board for TÜBİTAK TEYDEB Information Technology Group from May 2015 to April 2018, and member of the Public-University-Industry Cooperation Working Group of the Republic of Turkey Ministry of Science, Industry, and Technology from October 2016 to December 2017.

Challenges in Next Generation Sequencing Analysis and Solution Approaches

Next generation sequencing (NGS) is extensively used for basic and clinical research. The bioinformatics pipelines designed to process and analyze NGS data is critical to make best use of the NGS technologies. These pipelines, using various tools and organizing them in different ways, can not only help interpretation of results, but also offset some experimental errors in NGS.

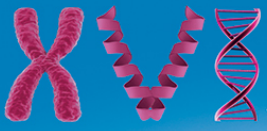
In recent years, we have utilized NGS technologies in two diverse cases; RNA sequencing based differential expression (DE) analysis in Axolotl (*Ambystoma mexicanum*), a neotenic salamander with the "superpower" to regenerate, and whole exome sequencing analysis in Human. Either of cases came with its own challenges. While DE analysis in Axolotl posed data quality and availability related challenges, WES analysis in Human, posed challenges in interpretation of data for clinical use. We have used various bioinformatics tools and resources to tackle these challenges.

In this talk, I will present a sample of challenges we faced, our solution approaches and ongoing effort to improve analysis.

Yeni Nesil Sekanslama Analizlerinde Karşılaşılan Güçlükler ve Çözüm Yaklaşımları

Yeni nesil dizileme (YND), temel ve klinik araştırmalar için yaygın olarak kullanılmaktadır. YND verilerini işlemek ve analiz etmek için tasarlanan biyoinformatik iş akışları, YND teknolojilerini en iyi şekilde kullanmak için kritiktir. Bu akışlar çeşitli araçlar kullanarak ve bunları farklı şekillerde düzenleyerek, sadece sonuçların yorumlanmasına yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda YND'deki bazı deneysel hataları da telafi edebilir.

Son yıllarda, YND teknolojilerini iki farklı durumda kullandık; rejenerasyon "süper gücü" olan bir neotenic semender olan Axolotl (*Ambystoma mexicanum*)'da RNA dizilimi bazlı karşılaştırmalı gen ifade (KGİ) analizi ve insanda tüm ekzom dizilim (TED) analizi. Her iki durumda kendi zorlukları ile birlikte geldi Axolotl'deki KGİ analizi, veri kalitesi ve kullanılabilirlikle ilgili zorluklar barındırırken, insanda TED analizi klinik kullanım için verilerin yorumlanmasında zorluklarla geldi. Bu zorlukların üstesinden gelmek için çeşitli biyoinformatik araçları ve kaynaklarını kullandık.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Burcu Balcı Hayta

Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Doç. Dr. Burcu BALCI-HAYTA, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden 1999 yılında mezun olduktan sonra, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans (2002) ve doktora eğitimini (2008) tamamladı. Yüksek lisans çalışmaları kapsamında CNRS bursu ile 2001 yılında Fransa-Paris'te bulunan Institut Pasteur, Batiment de Biotechnology, Unite de Genetique des Deficits Sensoriels'de nadir hastalıklardan sorumlu genleri tanımlamaya yönelik çalışmalara katıldı. Bunu takiben, doktora çalışmaları kapsamında 2002-2003 yıllarında UK-Londra'da bulunan Imperial College, Faculty of Medicine ICSM, Department of Pediatrics Obstetrics&Gynaecology, Neuromuscular Unit'de konjenital müsküler distrofilerin moleküler temellerini aydınlatmaya ve hastalıktan sorumlu yolları aydınlatmaya yönelik fonksiyonel çalışmalara katıldı. Araştırma alanları ve projeleri arasında; nadir nöromusküler hastalıkların moleküler patofizyolojisinin aydınlatılması, in-vitro hastalık modelleri üzerinde tedavi hedeflerinin belirlenmesi ve mitokondriyal işlev ve kalite kontrol mekanizmalarının kas hasarı üzerindeki etkilerinin araştırılması yer almaktadır.

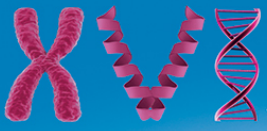
Dr. Burcu BALCI-HAYTA graduated from Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology in 1999. She received her MSc degree (2002) and PhD degree (2008) at Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology. In 2001, she worked in projects related to identification of genes responsible from rare diseases at Institut Pasteur, Batiment de Biotechnology, Unite de Genetique des Deficits Sensoriels, Paris, France (CNRS grant). During her PhD studies, between 2002-2003 years she performed functional studies to clarify the molecular basis of congenital muscular dystrophies and responsible pathways at Imperial College, Faculty of Medicine ICSM, Department of Pediatrics Obstetrics&Gynaecology, Neuromuscular Unit, London, UK. Her research areas and projects are on clarification of molecular pathophysiology of rare neuromuscular disorders, determination of therapeutic targets on in-vitro disease models and investigation of the effects of mitochondrial function and quality control mechanisms on muscle dysfunction.

Nöromusküler Hastalıkların Patogenezinde Mitokondri Hasarının Önemi

Mitokondriler ökaryot hücrelerin yaşamını sürdürebilmeleri için gerekli olan temel biyoenerjetik ve anabolik işlevlerinin yanı sıra, nükleer genomun epigenetik regülasyonu, organeller arası etkileşim ile metabolit, protein ve lipid değişimi, onkogenik transformasyon için gerekli onkometabolitlerin salgılanması, sinaptik iletim ve immün sistemin regülasyonu vb. birçok temel hücresel yolda da anahtar rol oynamaktadır. Tanımlanan yeni işlevlerle birlikte, hücrenin sağlığını ve yaşam süresini etkileyen bu organelle yönelik olarak 'mitokondriyal tıp' dediğimiz kavram ortaya çıkmış durumdadır. Bu yaklaşımın amacı, farklı genetik ve çevresel etmenler sonucu ortaya çıkan hastalık gruplarında, ortak bir bulgu olarak ortaya çıkan mitokondri hasarının hücresel sonuçlarını hedefleyerek geriye döndürebilecek tedavi yaklaşımlarını ortaya çıkarmaktır. Özellikle son yıllarda organel hasarının erken dönem sonuçlarının hedeflenmesiyle, farklı hastalıklara yönelik ortak tedavi stratejilerinin geliştirilmesi güncel olarak araştırılan konular arasındadır. Disiplinler arası bir yaklaşımla yapmış olduğumuz araştırmalarımız kapsamında; genetik ve patolojik olarak birbirinden farklı nöromusküler hastalıkların patogenezinde, mitokondriyal kalite kontrol mekanizmaları ve organel hasarı ile ilişkili yeni yolların tanımlanmasına yönelik çalışmalarımız devam etmektedir. Bu bağlamda, yüksek ölçekli omik teknolojileri ve ileri işlevsel analizler ile mitokondri hasarı ile ilişkili yeni tedavi hedeflerinin ortaya çıkartılmasını hedeflemekteyiz.

The Role of Mitochondrial Dysfunction in Pathogenesis of Neuromuscular Disorders

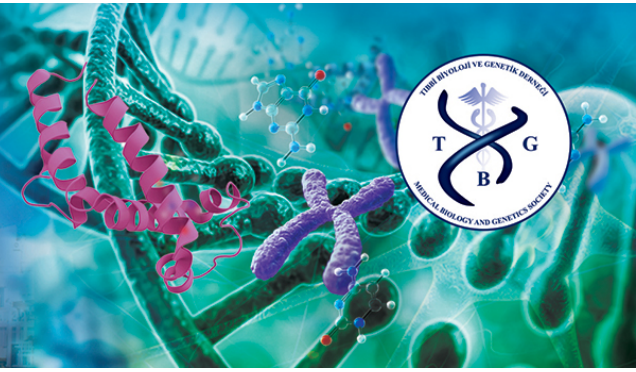
Mitochondria are now recognized to perform multiple essential cellular functions such as epigenetic regulation of the nuclear genome, exchange of metabolites, proteins and lipids through organelle interactions, secretion of essential oncometabolites that contribute to oncogenic transformation, synaptic transmission within the brain and regulation of the immune system, in addition to their main bioenergetic and anabolic functions that are essential for survival of eukaryotic cells. 'Mitochondrial medicine' has emerged as a new concept that refers to therapeutic approaches for mitochondrial dysfunction and its consequences as a common finding observed in a group of diseases caused by different genetic and environmental factors. In recent years, current research focuses on the development of common treatment strategies that aims to determine organelle dysfunction at early stages. Our research is being performed with an interdisciplinary approach and involve mitochondrial quality control mechanisms in the pathogenesis of neuromuscular disorders which have various genetic and pathologic background and identification of novel pathways related to organelle dysfunction. In this context, we aim to discover novel therapeutic targets related to mitochondrial dysfunction by high throughput omics technologies and functional analysis.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



Burçin Ünlü

Boğaziçi Üniversitesi, Fizik Bölümü, İstanbul

Mehmet Burçin Ünlü received his bachelor's and master's degrees from METU and Boğaziçi departments and completed his Ph.D. at Stevens Institute of Technology. In his postdoctoral work, he focused on cancer imaging and medical physics. He worked as a researcher for five years at the Tu & Yuen Center for Functional Onco-Imaging, Radiological Sciences, School of Medicine, University of California at Irvine. He has been a faculty member in the Department of Physics at Boğaziçi University since 2009. He is the head of the same department since 2018.

He worked at Stanford University School of Medicine Laboratory of Artificial Intelligence in Medicine for one year between 2017-2018. He went to Hokkaido University School of Medicine and worked on proton therapy for 6 months.

Burçin Ünlü continues to work on the applications of physics in the field of health at the Bogazici University Medical Imaging Lab, which he founded in 2012.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Didem Dayangaç Erden

Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Prof. Dr. Didem DAYANGAÇ-ERDEN, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden 1997 yılında mezun oldu. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalından 1999 yılında yüksek lisans ve 2005 yılında doktora derecesini aldı. 2001 ve 2003 yıllarında Cystic Fibrosis European Network Bursu ile Medical School Hannover, Department of Biochemistry and Tumour Biology, Hannover, Almanya’da kistik fibrozis ve ilişkili metabolik hastalıklarda moleküler genetik ve fonksiyonel analizler gerçekleştirdi. 2004 yılında ise Istituto di Genetica Medica, Università Cattolica, Roma, İtalya’da spinal müsküler atrofi hastalığının moleküler patofizyolojisini aydınlatmaya ve tedavisine yönelik araştırmalarda bulundu. Araştırma alanları ve projeleri arasında; nadir hastalıkların moleküler patofizyolojisinin aydınlatılması ve fenotipik ciddiyeti etkileyen yolkak ve epigenetik faktörlerin araştırılması konular yer almaktadır.

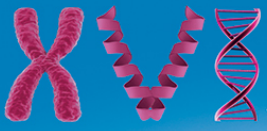
Dr. Didem DAYANGAÇ-ERDEN graduated from Hacettepe University, Faculty of Science, Department of Biology in 1997. She received her MSc degree (1999) and PhD degree (2005) at Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology. In 2001 and 2003, she performed molecular genetic and functional analysis in cystic fibrosis and related metabolic disorders at Medical School Hannover, Germany (CF European Network Cystic Fibrosis European Network Grant). In 2004, at Università Cattolica, Rome, Italy she studied the effect of prodrug candidates on gene expression in spinal muscular atrophy in order to clarify molecular pathophysiology and treatment of the disease. Her research areas are on molecular pathophysiology and genetic epidemiology of rare genetic disorders, identification of modifier genes, responsible pathways and epigenetic factors.

Hastalık Patolojilerinin Aydınlatılmasında Genombilim Teknolojilerinin Önemi

Genetik alanındaki teknolojik gelişmelere paralel olarak paradigma değişiklikleri olmuş ve daha bütüncül bir yaklaşım olan genombilim kavramı ön plana çıkmıştır. Yüksek ölçekli omik platformlarının çıktılarında elde edilen bilgi ve teknolojinin; hastalık riski, yatkınlığı, erken tanı ve prognozunun belirlenmesi amacıyla kullanılması ve öncelikli tedavi yaklaşımlarının saptanmasına yönelik olarak bu verilerden yararlanılması “genombilim” olarak tanımlanmaktadır. Genombilim teknolojileri genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi platformlara ayrılmakta ve çoklu omik yaklaşımlarıyla elde edilen büyük verilerin biyoinformatik araçlarla analizi gerçekleştirilmektedir. Bu platformlardaki genombilim araştırmaları DNA, RNA, protein, metabolitler gibi biyobelirteçleri tanımlamaya yönelik çalışmaları içerdiği için hastalıkların erken moleküler tanısını hedeflemektedir. Moleküler biyobelirteçler hastalığın önlenmesini veya tedaviye yönelik erken müdahale imkânını sağlama potansiyeline sahiptir. Günümüzdeki hedef bu araştırmaların çıktılarının sağlık alanında kişiselleştirilmiş tıp (personalized medicine) veya daha güncel tanımıyla hassas, öngörülse tıp (precision medicine) uygulamalarında kullanılabilmesidir.

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde, referans merkezi konumdaki hastaneleri, güçlü araştırma altyapısı ve çok disiplinli araştırma ekipleriyle genombilim araştırmaları yürütülmektedir. Transkriptomik alanında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji, Nöroloji, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dallarının yer aldığı multidisipliner çalışmalar sonucunda, bugüne kadar farklı ciddiyetteki spinal müsküler atrofi hastalarında fenotipi modifiye edici genlerinin etkilerinin mikroarray ile belirlenmesi, elde edilen verilerin in-vitro ve in-vivo hastalık modelleri yardımıyla araştırılması ve hastalık ciddiyeti ile aday genler arasındaki ilişkinin belirlenmesi, aynı mutasyonu taşımalarına rağmen hastalık seyri farklılık gösteren (ağır/ hafif seyirli) kistik fibrozisli hasta kardeşler arasında, ifade farklılığı gösteren genlerin CFTR ekspresyon array yöntemiyle saptanması ve ilişkili yolkaların tanımlanması, fenotipik farklılığı açıklayabileceği düşünülen ortak miRNA’ların miRNA array ile tanımlanması ve işlevlerinin araştırılması, sporadik amiotrofik lateral skleroz hastalığında iskelet kasının işlevini etkileyen miRNA profilinin incelenmesi gibi projeler gerçekleştirilmiş ve bu çalışmaların devamında ileri işlevsel analizler başlatılmıştır.

Hastalık patolojilerinin aydınlatılabilmesi için genombilim teknolojilerini kullanarak yaptığımız temel araştırmaların tedavide klinik uygulamalara aktarılabilmesi (translasyonel araştırma), erken tanı ve yenilikçi tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ile hassas/öngörülse tıp kavramının hayata geçirilebilmesi hedeflenmektedir. Genombilim çıktılarında yola çıkarak yapmış olduğumuz bu araştırmalar ile 21. yüzyıl tıp paradigmaları açısından oldukça önemli olan moleküler tıp kavramına katkı sağlanabilecektir. Bu bilgiler ışığında daha doğru ve hızlı tanı koyulabilmesi, ortak yolkaların analizi ile



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



daha iyi hastalık sınıflandırmalarının yapılabilmesi ve daha etkin tedavi yöntemlerinin bulunabilmesi nihai hedeftir.

Omics Technologies in Understanding Disease Pathologies

In parallel to technological improvements in the field of genetics, there has been a paradigm shift from genetics to genomics. Data obtained from high throughput omics technologies enable risk, predisposition, early diagnosis and prognosis of disease and novel treatment options. Omic platforms are divided into groups such as genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. Generating and merging big data is performed by multi omics technologies and bioinformatic tools. Research on genomics focus on identification of molecular biomarkers such as DNA, RNA, protein, metabolites and early molecular detection. These biomarkers will provide an opportunity for early prevention and intervention of the disease. In this postgenomic era, the goal is to use the data in personalized or precision medicine concept.

At Hacettepe University Faculty of Medicine, with its referral center hospitals, strong infrastructure and experienced academic staff, genomic research aimed at studying the molecular pathogenesis of diseases are being carried out. Transcriptomic research is being performed as a result of multidisciplinary interactions between Hacettepe University Faculty of Medicine, Departments of Medical Biology, Neurology and Chest Diseases. Projects involve; determination of the effects of modifier genes by microarray analysis on the phenotype of spinal muscular patients with different severity, analysis of the data by using in-vitro and in-vivo disease models, identification of differentially expressed genes by CFTR expression array to explain phenotypic differences between cystic fibrosis siblings with same mutation, detection of related pathways, analysis of common miRNAs by miRNA array and their functions, investigation of miRNA profile that affects function of skeletal muscle in sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients.

Basic research performed to elucidate pathology of diseases by omics technologies aims to apply research data to clinical trials (translational research) and implement precision/predictive medicine. The deliverables produced from genomics research will provide contribution to molecular medicine concept which is a new paradigm for the 21st century medicine. In accordance with the information obtained, the ultimate goal is early and accurate diagnosis, deep phenotyping and to discover the best treatment strategies.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Duygu Gezen Ak

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul

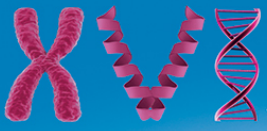
Lisans eğitimimi 2000 yılında İ.Ü Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde, yüksek lisans eğitimimi 2003 yılında, doktora eğitimimi ise 2009 yılında İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD'da tamamladım. 2000 yılından 2014 yılına kadar aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak hizmet verdim. 2014 yılında doçentlik ünvanını aldım. 2007 ve 2011 yıllarında Rutgers, University of Medicine and Dentistry of New Jersey (UMDNJ) Department of Biochemistry and Molecular Biology, Department of Neuroscience bölümlerinde araştırma deneyimine sahip oldum. Avrupa Birliği, TÜBİTAK ve BAP projelerinde görev aldım. Şu ana kadar SCI ve SCI-E dergilerde yayınlanmış 36 adet makalesi ve 1000'in üzerinde atfı bulunmaktadır. Halen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi olarak görevine devam etmektedir. Nörodejenerasyonun ve nörodejeneratif hastalıkların temel yolları, amiloid beta patolojisi, alfa sinüklein patolojisi, Vitamin D'nin nörodejenerasyon ile ilişkisi gibi konularda çalışmalarını sürdürmektedir.

Gen regülasyonunda amiloid beta 1-42: Alzheimer patolojisine farklı bir bakış

Amiloid beta 1-42 (Aβ1-42) peptidinin bazı genlerin ekspresyonlarını değiştirdiği bilinmektedir. Grubumuz tarafından da bir çok genin ekspresyonunu etkileme kapasitesine sahip olduğu rapor edilmiş olan Aβ1-42'nin, bu etkisi genellikle toksik etkisinden kaynaklı ikincil bir cevap olarak düşünülmektedir. Ancak son yıllarda oldukça sınırlı sayıda çalışmada, nükleer membran porlarının, 4 kDa'lık Aβ'nin nükleusa doğrudan transportuna izin verebileceği ve Aβ1-42'nin nükleusa göç edebildiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra APP, BACE1 ve APOE promotörlerindeki ortak bir dizi olan "KGGRKTGGGG" bölgesine Aβ'nin bağlanabildiği rapor edilmiştir. 2017 yılında tamamen bir rastlantı eseri, hiç bir uygulama yapılmamış primer kortikal nöronlarda, medyum içeriğinde bulunan antibiyotik, Aβ1-42'nin lokalizasyonunu sitoplazmadan nükleusa doğru değiştirdiği, ancak ekspresyonunu değiştirmediği literatürde ilk kez grubumuz tarafından saptanmıştır. Böylece, Aβ1-42'nin sitoplazmadan nükleusa translokasyonunun antibiyotik dozuna bağımlı olabileceğini göstermiş olmakla beraber, Aβ1-42'nin antibiyotiklere karşı olası bir transkripsiyonel yanıtı tetikleyebileceğini ileri sürdük. FpClass PPI tahmin programında, amiloid prekürsör proteini (APP)'nin (Aβ1-42, APP kesimi sonucu oluşmaktadır), FpClass PPI tahmin verilerine göre transkripsiyon faktörleri (TF) ile etkileşime girebilme ihtimalinin olduğunu rapor ettik. Bu TF'lerin 57 tanesinin 0.5'in üzerinde ve 23 tanesinin 0.7'nin üzerinde skora sahip olduğunu belirledik. Ek olarak, Aβ1-42'nin hem kendi üretimini arttıracak genlerin, hem de nörodejenerasyonu şiddetlendirebilecek genlerin ekspresyonlarını değiştirerek hastalığın ilerleyişini hızlandırabileceğine dair bir hipotez kurduk ve bu kapsamda bu yollarla görev alan 20 gen üzerindeki etkisini primer kortikal nöronlarda araştırdık ve 12'si ile ilişkisini literatürde ilk kez gösterdik. Sonuç olarak endojen Aβ1-42'nin farklı hücre tiplerinde sitoplazma, nükleus ve bazı organellerde lokalize olabildiği, direkt veya indirekt olarak transkripsiyon faktörleri ile etkileşime geçebileceği, belirli koşullarda hücre içerisinde farklı subselemler alanlara göç edebildiği ve DNA'ya bağlanma kapasitesi Aβ1-42'nin bir transkripsiyon faktörü olarak işlev gösterebileceğine dair güçlü veriler sunmaktadır. Bu durumda, Aβ1-42 nöron yaşamında tahminimizin ötesinde işlevlere sahip olabilir; Aβ1-42'yi tamamen ortadan kaldırmaya yönelik tedavi yaklaşımları tekrar düşünülmelidir; yüksek miktarda Aβ1-42 aşırı çalışan bir transkripsiyon faktörü olarak kendi üretimini artırıyor olabilir ve nörodejenerasyonu ilerleten genlerin ekspresyonlarını değiştiriyor olabilir. Bu çalışmalar TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no:11S5438; 214S585; 214S586; 217S375).

Amyloid beta 1-42 in gene regulation: A different view of Alzheimer's pathology

Amyloid beta 1-42 (Aβ1-42) peptide is known to alter the expression of certain genes. This effect of Aβ1-42, which has been reported by our group and others to be capable of influencing the expression of many genes, is generally considered a secondary response due to its toxic effect. In

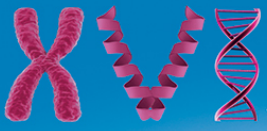


TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



recent years, however, a limited number of studies have shown that nuclear membrane pores can allow direct transport of 4 kDa A β to the nucleus and A β 1-42 can migrate to the nucleus. In addition, it has been reported that A β can bind to the "KGGRKTGGGG" region, a common sequence in the APP, BACE1 and APOE promoters. In 2017, it was first found by our group in the literature that the antibiotic contained medium changed the localization of A β 1-42 from the cytoplasm to the nucleus without changing its expression in the untreated primary cortical neurons. Thus, we have shown that translocation of A β 1-42 from the cytoplasm to the nucleus may depend on the dose of antibiotics, we have also suggested that A β 1-42 may trigger a possible transcriptional response to antibiotics. With the help of a protein protein interaction (PPI) prediction tool, we have reported that the amyloid precursor protein (APP) is likely to interact with transcription factors (TF). We determined that 57 of these TFs had scores above 0.5 and 23 of them had scores above 0.7. In addition, we hypothesized that A β 1-42 can accelerate the progression of the disease by altering the expression of both genes that increase its production and the genes that may exacerbate neurodegeneration., We investigated the effect of these 20 genes on these pathways in primary cortical neurons. As a result, endogenous A β 1-42 can be localized in cytoplasm, nucleus and some organelles in different cell types, can interact directly or indirectly with transcription factors, can migrate to different subcellular areas within the cell under certain conditions. The capacity of A β 1-42 to bind to DNA provide strong data that it can function as a transcription factor. Given that, A β 1-42 may have functions in neuronal survival beyond our predictions; treatment approaches to completely abolish A β 1-42 should be reconsidered; a high amount of A β 1-42 may increase its production as an over-expressing transcription factor and alter the expression of genes that promote neurodegeneration. These studies were supported by TUBITAK (Project no:115S438; 214S585; 214S586; 217S375)



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

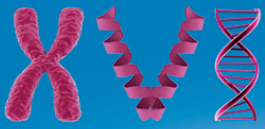


Elif Nur Fırat Karalar

*Koç Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
İstanbul*

Determination of molecular relationships between centrosomes and cilia anomalies and ciliopathies

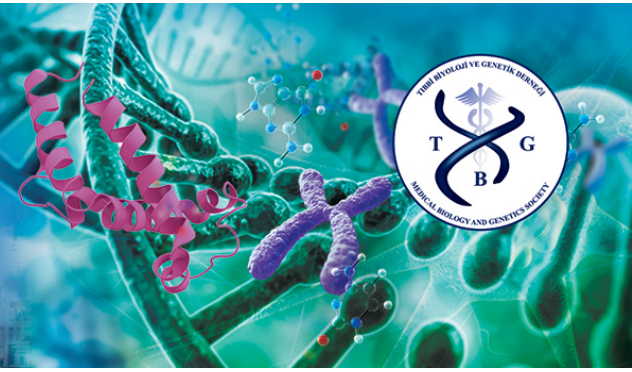
Centriolar satellites are ubiquitous structures in vertebrate cells. They are an array of membrane-less granules that localize around the centrosome/cilium complex, which function in diverse cellular and organismal processes. Centriolar satellites regulate centrosome/cilium-complex biogenesis, and their mutations are linked to ciliopathies. However, their precise functions and mechanisms of action and the functional significance of their typical clustering around the centrosomes remain poorly understood. To determine their functions as discrete protein complexes, we generated satellite-less retinal pigmental and kidney epithelial cells and investigated the cellular and molecular consequence of satellite-loss. While satellites were essential for cilium assembly in retinal epithelial cells, satellite-less kidney epithelial cells still formed full-length cilia but at significantly lower levels, with changes in the centrosomal and cellular levels of key ciliogenesis factors. Using the kidney epithelial cells that ciliated, we identified the first satellite-specific functions at cilia, specifically in regulating ciliary content, Hedgehog signalling, and epithelial cell organization. Next, we employed a chemically inducible trafficking approach to restrict satellite localization at the cell periphery or the centrosome. Using these cells, we determined which proteins redistribute along with satellites and thereby are regulated by them. By determining the phenotypic consequences of satellite redistribution, we identified functions for centriolar satellites in cilium assembly and cell division. Finally, we focused on functional characterization of disease-implicated CS residents and identified the retinal degeneration product CCDC66 as a key regulator of ciliary axoneme assembly and stability. Together, our findings reveal the satellites are required for efficient centrosome and cilium assembly and function and provide insight into disease mechanisms.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



Elissaveta Yordanova Naumova

*Department of Clinical Immunology Faculty of Medicine,
Medical University of Sofia, Bulgaria*

Prof. Elissaveta Naumova is a Chief of the Department of Clinical Immunology with Stem Cells Bank, University Hospital "Alexandrovska", Sofia, Bulgaria. She has two acquired medical specialties in Internal Medicine and Clinical Immunology. She is also a director of the Expert Center for Primary Immunodeficiency in Bulgaria.

Prof. Naumova is a Head of the Department of Clinical Immunology

Faculty of Medicine, Medical University of Sofia. She is a regular lecturer on clinical immunology and internal medicine to medical students and doctors.

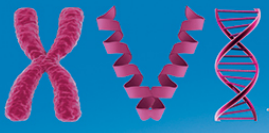
The scientific interests of Prof. Naumova are mainly focused in the field of clinical immunology, immunogenetics, transplantology and application of novelties in the clinical practice. She has more than 160 scientific publications, more than 1000 citations, h-index 17. Prof. Naumova is an author of 33 book chapters. She has actively managed and participated in the implementation of 25 national and 12 international scientific projects. Prof. Naumova has 1 recognized invention, 1 rationalization and 2 models. She has organized a number of national and international scientific meetings and also has been invited as plenary lecturer to many renowned international and national forums.

Prof. Naumova is well known for her significant expert activity such as: national consultant on clinical immunology, chair and member of working groups for preparing of medical standards. She is often invited to review scientific articles, and is a member of the editorial boards of some national and international scientific journals. Prof. Naumova has been presented with prestigious awards such as: "Prof. Dr. Stoyan Kirkovich" for significant achievements and exceptional contribution to the medical science and practice; Honorary Medal of the Bulgarian Ministry of Health for an outstanding input in the medical practice and significant accomplishments in the field of the clinical immunology in Bulgaria. Recently she received prestigious "Pythagoras" Prize of the Ministry of Education and Science of the Republic of Bulgaria.

Prof. Naumova is a member of the board of the national and international professional organizations. She is a founder and chair of the Bulgarian association of clinical immunology.

Prof. Elissaveta Naumova was President of the European

Federation For Immunogenetics (EFI) in the period 2015-2018.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Erdal Karaöz

*İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, İstanbul
Liv Hospital Rejeneratif Tıp Kök Hücre Merkezi, İstanbul*

Üniversite eğitimini 1986 yılında Dicle Üniversitesinde tamamlayan Dr. Karaöz, 1994 yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında “Doktora” eğitimini tamamladı. 1996 yılında “Doçent” ve 2002 yılında “Prof.” sanlarını aldı. 2000 yılından günümüze “Kök Hücre, Doku Mühendisliği ve Gen Tedavileri” alanında çalışmalar yapan Dr. Karaöz, 2005 yılında ABD Boston’da Harvard Üniversitesinde “Embriyonik Kök Hücre ve Adacık Transplantasyonu” konusunda çalışmalarda bulundu. Yayımlanmış 4 adet kitabı, 7’si uluslararası olmak üzere 11 kitap bölüm yazarlığı, 102’si uluslararası olmak üzere 158 yayımlanmış makalesi bulunan Dr. Karaöz 2007 yılında ülkemizde alanındaki ilk kurumsal Ar-Ge merkezi olan “Kocaeli Üniversitesi (KOU) Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi” (KÖGEM)’ni kurmuştur. KÖGEM’de çalıştığı sürece toplam 23 adet ulusal ve uluslararası düzeyde “Kök Hücre, Doku Mühendisliği ve Endometriyum-Embriyo Ko-Kültür” konularında kurslar düzenlemiştir. Bu süreçte, 30’u TÜBİTAK olmak üzere birçok ulusal ve uluslararası projede yürütücü, araştırmacı ve danışman olarak görev yapmıştır.

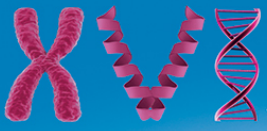
Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde 2010 yılında “Kök Hücre Anabilim Dalı”nın kurucu Başkanı olarak görev almış ve ülkemizde “Kök Hücre” alanında ilk Lisansüstü Eğitimin başlatılmasını sağlamıştır. 1 Ekim 2014 tarihine kadar sürdürdüğü bu görevinden kendi isteğiyle emekli olarak Liv Hospital / İstanbul, Rejeneratif Tıp, Kök Hücre Üretim Merkezleri Sorumlusu olarak göreve başlamıştır. Dr. Karaöz, birçok uluslararası bilimsel dergi için hakemlik görevlerinin yanı sıra bazılarının editörler kurulunda yer almaktadır. Frontiers in Cell and Developmental Biology, section Stem Cell Treatments dergisinde yardımcı editör olarak görev yapmaktadır.

Prof.Karaöz, 2013-2016 yılları arasında “Kök Hücre ve Hücresel Tedavi Derneği”nin kurucu yönetim kurulu başkanı olarak görev yapmıştır. Prof. Karaöz, esas olarak, çeşitli doku ve organlardan elde edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin immunosüpresif, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik, yeni damar oluşturma ve ince yapı özelliklerinin yanı sıra embriyonik ve uyarılmış pluripotent (iPSCs) kök hücrelerin diyabet tedavisinde beta hücre replasmanı uygulamaları üzerinde Ar-Ge çalışmalarını sürdürmektedir. Günümüze kadar birçok

ulusal ve uluslararası kök hücre laboratuvarlarının kuruluş sürecinde danışmanlık yapmıştır. Günümüzde Özel Liv Hastanesi bünyesinde direktörü olduğu “Rejeneratif Tıp Merkezi”ndeki GMP (Good Manufacture Practice) Lab.da üretilen insanlara nakledilebilir hücreler ile çeşitli hastalıklara sahip insanların hücresel tedavi seçeneklerinden yararlanmaları konusunda bakanlık onayı gerektiren ya da gerektirmeyen süreçleri yönetmektedir. Prof. Karaöz, Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanmış "Duchenn Musküler Distrofi", "Spinocerebellar ataxia", "Frederich ataxia", "Non-progresif konjenital miyopati", "omurilik yaralanması", "Retinitis pigmentosa", "iskemiye bağlı hipoksik ensefalopati", "kafa travması sonrası gelişen ensefalomalazi", "serebral palsi" ve "subakut sklerozan pan ensefalit (SSPE) gibi günümüzde bilinen tıbbi yöntemlerle tedavisi mümkün olmayan birçok hastalık için Allojenik Göbek Bağı Matriksi Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Etkinliği başlıklı birçok klinik deneme ve araştırma projelerinde görev almıştır. Prof. Karaöz, 01.04.2015 6642 sayılı kanun ile kurulan İstinye Üniversitesinin kurucu Rektör yardımcısı ve Tıp Fakültesi öğretim üyesi olarak da akademik çalışmalarına devam etmektedir. İSU de Kök Hücre ve Doku Mühendisliği Araştırma Uygulama Merkezini kuruluşunu gerçekleştiren Dr. Karaöz bu merkezde halihazırda ulusal ve uluslararası Ar-Ge faaliyetlerini sürdürürken eş zamanlı olarak Kök Hücre ve Doku Mühendisliği Yüksek Lisans programını yürütmektedir.

He was born in 1963 in Izmir/TURKEY. After graduating from Dicle University in 1986, he received his Ph.D. degree from Histology & Embryology at Gazi University Medical School in 1994. After his PhD, he worked at Suleyman Demirel University, Faculty of Medicine as Associated Professor and Professor. He was in Joslin Diabetes Center of Harvard Medical School as a visiting scientist in 2005. After his return, he established and directed Turkey's first Stem Cell Research Center in 2006 at Kocaeli University until 2014. During these years, he published more than 70 original research articles on stem cells and cell biology in various international scientific journals. He authored 4 books and co-authored 6 books on Histology & Embryology and Stem Cell topics. He was the founder and head of the "Department of Stem Cells" in Kocaeli University Health Sciences Institute which was the first Graduate Education Program in the "Stem Cells" field in Turkey.

Dr. Karaoz is editor and referee for many international scientific journals such as "Frontiers in Cell and Developmental Biology, section Stem Cell Treatments". He organized over 23 national and international workshops on basic stem cell technologies and iPSCs. He participated in over 40 national and international research projects as a project manager or researcher. Dr. Karaoz is an active member of many academic and professional institutions including TERMIS, European Hematology Association, European Association for Cancer Research, Euroscience, Turkish Society for Electron Microscopy, Turkish Society of Hematology, Society of International Cellular Medicine Society. He was also the head of Stem Cell and Cell Therapies



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



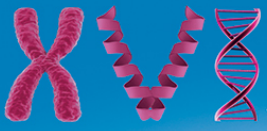
Society between 2013-2016 years and he is still in the management board.

He started to work in Liv Hospital, Istanbul as the director of Regenerative Medicine & Stem Cell Production Center and its GMP facility, in October 2014. Cellular products such as fibroblast, chondrocytes and MSCs were produced under FDA and GMP regulations for cellular therapies. These cells are used in the treatment of many diseases such as chronic non-healing scars like diabetic foot, orthopedic disorders like articular cartilage damages, osteoarthritis, shoulder problems, peripheral arterial disorders and in GVHD. They were also used in cosmetic operations, skin anti-ageing, facial grafting, breast reconstruction, burn scars. Dr. Karaoz and his colleagues have been focused on the clinical studies for the treatment of incurable diseases, especially including neuro-muscular degenerative disorders (Duchenne Muscular Dystrophy; DMD, Cerebral Palsy, Spinocerebellar/Fredrich Ataxia, Hypoxic encephalopathy, Spinal Cord Injury etc) via application of MSCs derived from umbilical cord.

Prof. Karaoz is one of the founder academicians and Vice-Rector of Istinye University. He continues his academic duties at the Faculty of Medicine, Histology and Embryology Department and Stem Cell and Tissue Engineering Master's Program, along with "Stem Cell and Tissue Engineering Research and Implementation Center (ISUKOK)". Prof. Karaöz is currently carrying out cellular therapies, academic studies and national and international R&D activities at the same time.

Stem cell-based therapies for neuro-muscular degenerative disorders: today and tomorrow

Recent insights into stem cell (SC) biology promise the regeneration of damaged organs. Stem cells (SCs) have the capability of self-renewal and differentiation into a wide range of cell types with various potential clinical and therapeutic applications. SCs are providing hope for many diseases that are currently in need of effective therapeutic methods, including neurodegenerative disorders like; stroke, amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease, Parkinson's disease and as well as muscular dystrophy disorders like Duchenne Muscular Dystrophy and Facio-scapulo-humeral Muscular Dystrophy. For this aim, numerous pre-clinical studies have been achieved and/or in progress on different types of stem cells including, induced pluripotent stem cell (IPS), embryonic stem cell (ESC) and neural stem cells. But there are some complications on the clinical utilization of these cells, due to the reason of ethical issues and especially because of the potential of formation of teratomas via IPSs and ESCs. For this reason, as we glance to the clinical trials ongoing nowadays, we see that mesenchymal stem cells (MSCs) are studied intensely on clinical applications. MSCs attracted particular interest because of their ease of isolation, characterization, apparent multipotency and pleiotropic effects. MSCs are capable of self-renewal and differentiation into specialized cell types and thus have the potential to promote organogenesis, tissue regeneration, maintenance and repair. In addition to their capability of regulating inflammation, they can promote other beneficial effects, such as neuronal growth, decreasing free radicals, reducing apoptosis and releasing different neurotrophic factors which can assist the endogenous regeneration of the injured region. MSC studies in various disease models, including cardiovascular and neurodegenerative disorders, demonstrated their efficacy in attenuating organ injury. Currently, more than 700 human clinical trials employing cell therapy for the treatment of diverse diseases, including cardiac, neurologic, immune and respiratory conditions, are ongoing or completed. The results of clinical trials carried out for the treatment of various diseases, especially including neuro-muscular degenerative disorders, via application of MSCs derived from different tissues and manufactured in our own GMP facility, will be introduced in this presentation.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Fatma Kaya Dağıstanlı

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Dr. Fatma Kaya Dağıstanlı, lisans eğitiminini Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nde tamamlayıp, yüksek lisans ve doktora derecelerini Prof.Dr. Melek Öztürk'ün danışmanlığında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda tamamlamıştır. 2014 yılında Doçent ünvanını aldı. 2017 ve 2013 yılında Türk Elektron Mikroskopi Derneği tarafından verilen Prof. Dr. Türkan Erbenği Araştırma Ödülü'nü; 2005, 2007 yıllarında European Commission Marie Curie Actions Programme Bursu'nu, 2006 yılında International Federation of Societies for Microscopy tarafından verilen Young Scientist Bursu'nu, 2004 yılında International Federation of Societies for Histochemistry and Cytochemistry tarafından verilen Young Histochemist Bursu'nu ve 2005 yılında Prof.Dr. Altan Günelp 3.lük ödülü aldı. 4 Ulusal, 3 Uluslararası meslek derneğine üyeliği bulunmaktadır. Ulusal ve uluslararası dergilerde yayınlanmış 30 makale, 3 uluslararası ve 1 ulusal kitap bölüm yazarlığı bulunmaktadır. Halen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi olarak görev yapmaktadır. Deneysel diyabet modellerinde beta hücre rejenerasyonu, karaciğer hasarı modellerinde rejenerasyon ve hücre ölümü (apoptoz, otofaji, ER stresi) çalışma konuları arasındadır.

Dr. Fatma Kaya Dağıstanlı completed her undergraduate education at the Division of Biomedical Sciences, Cerrahpaşa Faculty of Medicine and received her master's and Ph.D. degrees in the Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, under the supervision of Dr. Melek Öztürk. In 2014, she was promoted to the rank of Associate Professor. She received Prof. Dr. Türkan Erbenği Research Award given by the Turkish Society for Electron Microscopy in 2017 and 2013; The European Commission Marie Curie Actions Programme Scholarship in 2005 and 2007; the Young Scientist Scholarship granted by the International Federation of Societies for Microscopy in 2006; The Young Histochemist Scholarship granted by the International Federation of Societies for Histochemistry and Cytochemistry and third place award of Prof. Dr. Altan Günelp. She is a member of 4 national and 3 international professional associations. She is the author of 30 articles published in national and international journals, 3 international and 1 national book chapters. She works as a faculty member at Cerrahpaşa

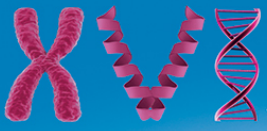
Faculty of Medicine, Department of Medical Biology. Her current research focuses on Beta-cell regeneration in experimental diabetes models, regeneration and cell death (apoptosis, autophagy, ER stress) in liver injury models.

Deneysel Karaciğer Hasar Modelleri ve Hücre Ölümü

Akut ve kronik karaciğer hastalıklarında çeşitli hücre ölüm tipleri hepatosit kaybına neden olmaktadır. Viral hepatit, alkolik veya alkolik olmayan steatohepatit (ASH ve NASH) ve ilaca bağlı karaciğer hasarı (DILI) gibi durumlarda aşırı hücre ölümü temel karaciğer hasar mekanizması olarak tanımlanmıştır. Karaciğer patofizyolojisinde hücre ölümüne yol açan biyokimyasal basamaklarda yer alan anahtar moleküllerin anlaşılıp tanımlanması, yeni tedavilerin geliştirilmesi ve test edilmesi için çeşitli deneysel karaciğer hasar modelleri kullanılmaktadır. İnsan alkolik sirozu ile birkaç özellik paylaşan akut veya kronik karaciğer hasarını uyaran karbon tetraklorür; sekonder biliyer sirozuna neden olan uzamış safra kanalı ligasyonu; organ nakli öncesi karaciğer korunmasında sıkça görülen değişiklikler taklit eden iskemi / reperfüzyon hasarı; paraziter enfeksiyonların patofizyolojisini araştırmak için yararlı olan deneysel amibik apse; otoimmün hepatite benzer bir durum yaratan konkanavalin A uygulaması; nekroz, fibroz ve kanser oluşumuna neden olan dimetil veya dietil nitrozaminin kronik olarak verilmesi bunlardan bazılarıdır. Ayrıca steatohepatit, nekroz ve fibrozis oluşumuna neden olan birkaç diyet modeli vardır. Beslenme, çeşitli karaciğer hastalıklarının patogeneğinde önemli bir faktördür. Karaciğer, lipoliz, lipogenez ve yağ depolama özelliği ile lipid metabolizmasında merkezi bir role sahiptir. Ayrıca karaciğer, glikoz homeostazının merkezi bir düzenleyicisidir ve metabolik taleplere göre glikoz depolar veya serbest bırakır. İnsüline dirençli durumlarda veya diyabette hepatik glukoz salınımının düzenlenmesi bu koşulların patofizyolojisine önemli ölçüde katkıda bulunur. Akut veya kronik karaciğer hastalığı, insülin direncini artırabilir ve bunun sonucunda insülinin hepatositler üzerindeki fizyolojik etkileri bozulur. İnsülin direnci karaciğer hasarının gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Apoptoz ve nekroz gibi klasik hücre ölümü tiplerine ek olarak, otofajik hücre ölümü, piroptoz ve nekroptoz da dahil olmak üzere diğer bazı hepatik hücre ölümü formları tarif edilmiştir. Her bir hücre ölümü yolu, başlatıcı olaylar, ikincil değişiklikler, terminal hücresel olaylar ve doku üzerindeki etkileri değerlendirilerek ayırt edilebilir.

Experimental Liver Injury Models and Cell Death

Various types of cell death cause hepatocyte loss in acute and chronic liver diseases. Excessive cell death is defined as the main mechanism of liver injury in cases such as viral hepatitis, alcoholic or non-alcoholic steatohepatitis (ASH and NASH) and drug-induced liver injury (DILI). Various experimental liver injury models are used to understand and



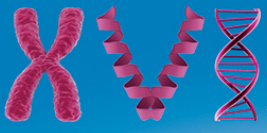
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



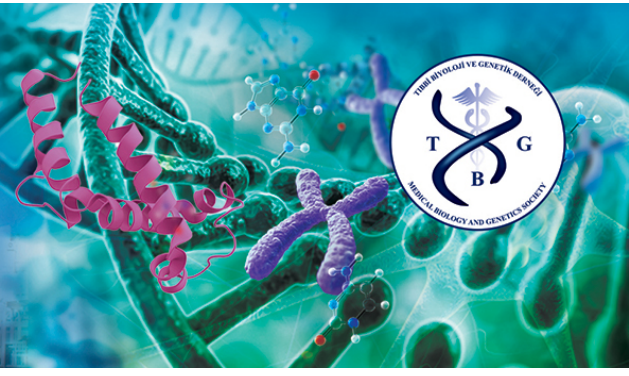
identify the key molecules involved in the biochemical steps leading to cell death in liver pathophysiology, and to develop and test new therapies. The most common experimental models to study liver diseases are carbon tetrachloride, which induces acute or chronic liver injury that shares several characteristics with human alcoholic cirrhosis; prolonged bile duct ligation that induces a secondary biliary cirrhosis; ischemia/reperfusion injury that mimics the alterations frequently observed in liver preservation before transplanting the organ; experimental amebic abscess, useful to explore the pathophysiology of parasitic infections; concanavalin A administration produces a similar condition to autoimmune hepatitis; chronic administration of dimethyl or diethyl nitrosamine produces necrosis, fibrosis, and cancer. There are also several dietary models that produce steatohepatitis, necrosis and fibrosis. Nutrition is an important factor in the pathogenesis of various liver diseases. The liver has a central role in lipid metabolism with its lipolysis, lipogenesis and fat storage properties. The liver is also a central regulator of glucose homeostasis and stores or releases glucose according to metabolic demands. Regulation of hepatic glucose release in insulin-resistant conditions or diabetes significantly contributes to the pathophysiology of these conditions. Acute or chronic liver disease can increase insulin resistance and as a result, the physiological effects of insulin on hepatocytes are impaired. Insulin resistance has been recognized as an independent risk factor for the development of liver damage. In addition to the classic types of cell death such as apoptosis and necrosis, other forms of hepatic cell death, including autophagic cell death, pyroptosis and necroptosis have been described. Each cell death pathway can be distinguished by evaluating initiating events, secondary changes, terminal cellular events, and their effects on tissue.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



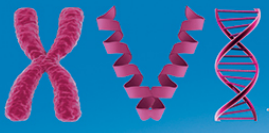
Gonca Emel Karahan

*Leiden University Medical Center, Department of
Immunohematology and Blood Transfusion Laboratory for
Transplantation Immunology, Netherlands*

Gonca Emel Karahan was born on the 12th of November 1978 in Istanbul, Turkey. After graduating from Besiktas Ataturk Anadolu High School in 1996, she started her studies of Biomedical Sciences in Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul University.

From her graduation in June 2000 until December 2011, she worked at the diagnostic HLA laboratory of the Department of Medical Biology, Istanbul Medical Faculty. During this period, she received her MSc degree (in 2003) and PhD degree in Medical Biology (in 2010) under supervision of Prof Dr. Mahmut Carin and Prof. Dr. Fatma Savran Oguz on research focused on the detection of HLA antibodies in kidney transplant recipients.

From January 2012 until July 2017 she has worked as a PhD student under supervision of Dr. Sebastiaan Heide and Prof. Dr. Frans Claas at the Department of Immunohematology and Blood Transfusion of the Leiden University Medical Center where she carried out the research on HLA-specific memory B cells. Since July 2017, she is working as a researcher in the same group, extending her research to HLA antibody characteristics and overseeing the research and development of the HLA diagnostic laboratory.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Köksal Özgül

Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Pediatrik Metabolizma Bilim Dalı, Ankara

Tanı Konulamayan Nadir Hastalıklarda Araştırma Teknolojileri

Nadir hastalıklar her 2000 bireyden bir kişiyi etkileyen hastalıklar olarak tanımlanır. Genombilim araştırmaları sonucunda insanda yaklaşık 22.000 gen tanımlanarak bu genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucunda ortaya çıkan çok sayıda genetik hastalık tanımlanmıştır. Nadir hastalıklar grubunda değerlendirilen tek gen hastalıklarının sayısı 8000 kadar olup, her yıl 260-280 kadar yeni hastalık veya farklı klinik fenotiplerden sorumlu olan yeni gen tanımlanmaktadır. Nadir, yeni tanımlanan veya tanı konulamayan bu grup hastalıklar için genellikle konvansiyonel tanı yöntemlerinin kullanılması tanıda gecikme veya tanı konulamaması ile sonuçlanmaktadır. Bu hastalarda klinik bulgular, biyokimyasal analizler, genetik test sonuçlarının ayrıntılı olarak değerlendirilmesi moleküler tanı başarı oranını artırmaktadır.

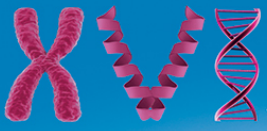
Yaşam bilimleri ve özellikle sağlık alanında kullanılan omik teknolojileri (genomik, proteomik, metabolomik vd.) olarak adlandırılan platformlar postgenomik dönemin bütüncül yaklaşım amacına hizmet eden yeni nesil araştırma disiplinleridir. Omik teknolojileri ile az miktarda biyolojik örnek kullanılarak yüksek hızda ve çok sayıda farklı analiz yapılabilir. Bu yöntemler veri çıktısı, yüksek özgüllük, hassasiyet, düşük maliyet açısından araştırma ve tıbbi tanı uygulamalarında hızla geleneksel yöntemlerin yerini almaktadır.

Nadir genetik hastalıklar için IRDIRC işbirliği ile 2020 yılına kadar yaklaşık 200 yeni tedavi seçeneği sunulması hedefi şimdiden aşılmış, yeni hedef olarak en nadir görülen hastalara bile en fazla bir yıl içerisinde tanı konulması amaçlanmaktadır. Bu nedenle nadir hastalıklar alanında kullanılan araştırma yöntemleri bu hasta gruplarının tanı almasını sağlamanın yanında, erken tedavi ve ilaç keşifleri için yapılan araştırmaların da önünü açmaktadır. Kromozom yapı ve sayısını incelemeye yönelik sitogenetik analizlerle başlayan genetik tanı testleri mikroarray analizleri ile çok daha kapsamlı hale gelmiştir. Yeni nesil DNA dizileme teknolojileri ile ekzom ve genom boyutunda dizi analizleri yapılabilmektedir. Ekzom ve genom dizilemesi sonucunda elde edilen binlerce varyasyonun içerisinde hastalık nedeni olan mutasyonu belirlemek gerekir. Saptanan

varyasyonların patojenik bir mutasyon yerine polimorfik varyasyon olma olasılığı önemli bir sorundur. Patojenik mutasyon ve polimorfik varyasyon ayrımında farklı yaklaşımlar kullanılabilir. Genom, hastalık ve mutasyon bilgilerini içeren veritabanları kullanılarak farklı mutasyonların neden olduğu klinik fenotipler araştırılabilir. Literatürde tanımlanmamış olan nükleotit değişiklikleri hakkında mutasyon tahmin programları kullanılarak patolojik etkileri tahmin edilebilir. Hastalarda saptanan nükleotit değişikliklerinin hastalık patolojisine neden olan bir mutasyon olup olmadığını o varyasyonun RNA, protein veya enzim üzerinde yaptığı yapısal veya fonksiyonel etki belirler. Bir mutasyonun patojenik etkisinin gösterilmesi için fonksiyonel deneylerin yapılması gerekebilir. Mutasyonların yeri ve tipine bağlı olarak protein üzerindeki etkileri ve hastalarda görülen klinik bulgular çok çeşitlilik gösterebilir. Bu nedenle hasta bireylere ait genetik analiz sonuçlarının biyokimyasal ve klinik bulgularla birarada değerlendirilmesi doğru tanıya ulaşmada son derece önemlidir.

Kalıtsal hastalıklarda görülen klinik ve genetik heterojenite nedeniyle tanı ve tedavide multidisipliner yaklaşım son derece önemlidir. Nadir hastalıklarda (metabolik, nörometabolik, nörolojik vd) yeni nesil dizileme en önemli moleküler tanı araçlarındandır. Son yıllarda genetik tanı için yüzlerce aday gende mutasyon taraması yapılması yerine hastalıklara özel gen panelleri yada tüm ekzom/genom dizilemesi yöntemleri etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Nadir hastalıklarda bilinen genlerin yanında yeni aday genlerin ve klinik fenotiplerin aydınlatılması da önemli bir araştırma alanıdır. Klinik ekzom dizileme analizlerinde ekzom veri filtrelenmesi ve klinik korelasyonun kurulması tanı için son derece önemlidir. Ekzom veya genom dizileme analizlerinin sonuç vermediği hastalarda transkriptom analizleri ve diğer bütüncül omik teknolojilerinin kullanılması yararlı olabilir. Yeni nesil dizileme teknolojilerinin kullanıldığı ekzom ve genom analizlerinde hastaların % 35-50'si tanı alabilmektedir. Bu nedenle nadir hastalıkların patofizyolojilerinin aydınlatılabilmesi için yeni alternatif teknolojik platformların kullanılması gereklidir.

Hastalık patolojilerinin doku özgüllüğü gösterdiği nadir hastalıklarda hastalara ait doku örneklerine erişim önemli bir sorundur. Kan, idrar ve diğer vücut sıvılarından yapılacak omik teknolojilerine dayalı analizler bu konuda son derece faydalı olabilir. Biyolojik yollarda üretilen son ürün olan metabolitler hücrede genom, transkriptom, proteom ve fenotiple bağlantılıdır. Metabolomik, sağlıklı fizyolojik koşullarda veya hastalık durumunda küçük molekül özelliğindeki metabolik ürünlerin (metabolitler, metabolom) tanımlanması ve nicel tayini için kullanılmaktadır. Klinik fenotipe neden olan mutasyonun belirlenmesinde genom seviyesinde saptanan tüm değişikliklerin biyoinformatik analizi, modifiye edici genlerin araştırılması, epigenetik değişiklikler, RNA dizileme, proteom ve metabolom analizlerini içeren kapsamlı metodlar birarada kullanılmaktadır. Günümüzde tanı ve tedavi takibinde tekli omik seçenekleri yerine çoklu omik yaklaşımlarının bütüncül olarak (bütünleşik multiomik teknolojiler) kullanılması tercih edilmektedir. Multiomik teknoloji platformu kullanılarak



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



yürütülen tüm bu araştırmaların nihai amacı canlı organizmalardaki farklı biyolojik işlevlerin anlaşılmasıdır.

Research and Technologies in Undiagnosed Rare Diseases

A disease is considered to be rare when it affects one person per 2000. To date, nearly 8000 rare diseases have been discovered and new diseases are regularly described in medical literature. Conventional workup of rare diseases is hampered by diagnostic delay or lack of diagnosis. The development of high throughput technologies for analyzing genome, transcriptome and metabolome has enabled the discovery of various genetic diseases. Recent developments in the fields of genomics and metabolomics offer enormous potential for elucidating genetic and metabolic causes of rare disorders.

These platforms, which are called omic technologies (genomics, proteomics, metabolomics etc.) used in life sciences and molecular medicine, are the new generation research disciplines that serve the integrated approach of the postgenomic era. Clinical findings, biochemical analysis, and detailed evaluation and interpretation of genetic test results increase molecular diagnosis success rate for these diseases. With the contribution of IRDIRC, it is aimed to provide approximately 200 new treatment options for rare genetic diseases by 2020. This goal has already been exceeded and the new goal is to diagnose even the most rare patients within one year.

The main feature of the omic technologies that are available today is that they are fast, allowing a large number of different analyzes using a small amount of biological samples. They have high specificity and sensitivity, providing high data output. Therefore, they are rapidly replacing traditional methods in medical diagnostic applications.

The rapidly changing technological platforms are reaching the point of being able to detect genetic variation in patients at high accuracy and reduced cost, offering the promise of fundamentally altering medicine. Use of next generation sequencing in WES and WGS for diagnostics and discovery, they can be used to detect methylation status of DNA, alternative splicing, small RNAs, allele-specific expression and even haplotype analyses and chromosomal rearrangements. Thus, NGS could potentially become a robust platform for a range of other 'omics' applications.

Mutations that cause clinical phenotype are now being investigated in the clinical settings by comprehensive methods including the evaluation of all genomic changes detected at the genome level, the search for modifying genes, epigenetic changes, and bioinformatics analysis on the genome level. Recently, instead of screening for a particular phenotype or targeted-specific gene panels, whole exome sequencing is thought to be an efficient method to identify possible disease-causing mutations.

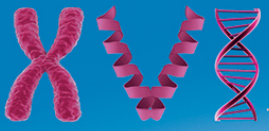
Different approaches can be used to differentiate between pathogenic mutation and polymorphic variation. Searchable online database of genome variants, mutation databases can be used to investigate clinical phenotypes caused by different

mutations. The search on variants can be filtered by different variables, including specific disease, gene, population. Identified variations in the patients may or may not affect protein function, depending on whether the change has effect on RNA or protein or enzyme. It should be investigated by functional tests what the genetic change actually does.

The identification of known genes in rare diseases and the elucidation of novel candidate genes and clinical phenotypes, which are even more exciting, are also important research areas. Exome data filtering and establishing clinical correlation are very important for diagnosis in clinical exome sequencing analysis. The clinical exome diagnostic task is to bioinformatically filter, curate, and interpret nucleotide changes in the context of the patient phenotype. Regardless of DNA sequencing technology, the diagnostic rate using exome or genome sequencing is approximately between 35% and 50%. Other alternative technological platforms are needed or developed to highlight the molecular basis of the rare diseases.

For patients in whom whole exome sequencing is uninformative, RNA sequencing (RNA-seq) analyses has shown diagnostic utility. RNA-seq has been used to measure RNA levels and quantify transcript diversity. RNA-seq shows considerable diagnostic promise for rare diseases, as it provides a measurement of the consequences of both coding and noncoding variants on gene expression levels. This includes tissue biopsies from patients with undiagnosed rare disorders. However, for many individuals, biopsies are not performed for clinical care, and tissues are difficult to access. The utility of RNA-seq from blood or different cell types integrated with other omics analyses as a useful diagnostic tool for rare diseases of different pathophysiologies. Metabolites are often end products of biochemical pathways that can link the genome, transcriptome and proteome to phenotype. Metabolomics is used to identify and quantify the small-molecule metabolic products (metabolome) in physiological or disease states.

Today, it is preferred to use integrated multiomics rather than single omic options in diagnosis and treatment follow-up of rare disorders. The ultimate goal is understanding the biological function of living organisms combining different experimental multiomics technologies.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Nedime Serakıncı

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi- Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, KKTC

Prof. Dr. Nedime Serakıncı, Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi- Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı, Fen-Edebiyat Fakültesi- Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Başkanı, Centre of Excellence Başkanı, Genetik ve Kansere Tanı-Araştırma Merkezi Başkanı, Kuzey Kıbrıs

Prof. Dr. Nedime Serakıncı 1970 yılında Lefkoşa’da doğdu. Lisans eğitimini 1992 yılında İstanbul Üniversitesi’nde biyoloji alanında tamamladı. 1993 yılında İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimi aldı ve Tıp Fakültesine özel öğrenci statüsünde devam etti. İlk doktora eğitimini Marmara Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik/ Aarhus Üniversitesi İnsan Genetiği Bölümünde tamamladı. Telomer- telomerase biyolojisi, kanser ve kök hücre biyolojisi alanlarında yaptığı araştırmalarla, çeşitli projeler için destek alarak Aarhus Üniversitesi, İnsan Genetiği Enstitüsü’nde “Kök Hücre ve Genetik Tedavi” araştırma programını kurdu.

Tıbbi Genetiğin yanı sıra Prof. Serakıncı’nın mezenkimal kök hücre biyolojisi, kanser ve telomer/telomerase biyolojisi alanlarında çalışmaktadır. 2003’te Tıbbi Genetik alanında ve 2007 yılında diğer bir ilgi alanı olan yaşlanma ve kök hücre genetiği alanında doçentlik aldı. 2011 yılında Tıbbi Genetik ve Kök Hücre Genetiği alanında profesörlüğünü aldı. Prof. Dr. Serakıncı’nın araştırma uzmanlığı, telomerase-immortalized mezenkimal kök hücreler, ve bunların gen terapisindeki kullanımı ve ilaç araştırması için doku modeli geliştirilmesi üzerinedir.

Prof. Dr. Serakıncı’nın araştırma programı, yetişkin mezenkimal kök hücrelerin moleküler, hücre ve gelişimsel biyolojisi üzerine odaklanmıştır. Programın temel amacı kök hücrelerin kendi kendini yenileme ve farklılaşma sürecinin altında yatan mekanizmaların anlaşılması için gerekli stratejik ve teknik yaklaşımların geliştirilmesidir. Nihai amaç ise hastalık ve yaralanmaların tedavisinde kullanılacak hücre ve gen bazı terapilerin uygulanması için gerçekçi ve bilimsel bir temel oluşturmaktır.

Prof. Dr. Serakıncı iki adet sınıf II laboratuvar kurdu ve 4 adet tam donanımlı genetik tanı ve genetik araştırma laboratuvarı kurdu. Ayrıca ‘Kök Hücre ve Gen Terapisi’ bölümünü de

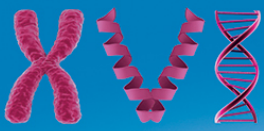
kurup yönetti. 2013 yılında kurulan Yakın Doğu Üniversitesi Centre of Excellence’in kurulduğu yıldan itibaren başkanlığını ve Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü ve Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bölümünün Bölüm Başkanlığını yapmaktadır. 2011 yılında Prof. Dr. Serakıncı Yakın Doğu Üniversitesi Hastanesinde Tıbbi Genetik ve Kansere Tanı ve Araştırma Merkezini kurmuş olup ve merkezi halen yönetmektedir. Bunun yanı sıra Güney Danimarka Üniversitesi’ndeki ‘Yaşlanma ve Telomer Genetiği’ Bölümünü de yönetmektedir. Prof. Serakıncı bir çok proje yürütmüş olup 58’den fazla uluslararası kabul görmüş makale yayınlamıştır. Ayrıca 7 adet kitap bölümü yazmıştır. Bunlara ek olarak kanser kök hücreleri ve genetik alanında yazdığı makaleler 2004, 2006, 2010 yıllarında dünyadaki bilimsel yayınlar arasında ilk 10 arasında yer almış ve 2014 yılında ise 5’inci olmuştur.

Prof. Dr. Nedime Serakıncı was born in Nicosia in 1970. She has completed her undergraduate degree in biology at İstanbul University in 1992. She received her Master’s degree at Division of Internal Medicine, Çapa Faculty of Medicine, İstanbul University in 1993 and continued onto Faculty of Medicine with a special student status. She completed her first PhD at Department of Medical Biology and Genetics in Marmara University. Through her research on telomere-telomerase biology, cancer and stem cell biology, she received another PhD from Division of Human Genetics, Aarhus University, Denmark in 2001. With the funding she received for various projects, she established ‘Stem cell and Gene Therapy’ division within the Institute of Human Genetics at Aarhus University.

Besides medical genetics, Prof. Serakıncı also works on and interested in mesenchymal stem cell biology, cancer and telomere/telomerase biology. In 2003, she became an associate professor in the field of Medical Genetics and received another associate professorship in her second field of interest, aging and stem cell genetics, in 2007. She received professorship in the fields of medical genetics and stem cell genetics in 2011.

Her research expertise is in telomerase-immortalized mesenchymal stem cells and their use in gene therapy and development of tissue models for drug discovery. Prof. Dr Serakıncı’s research program is focused on the molecular, cellular and developmental biology of the adult mesenchymal stem cell. The principle aim of the program is to develop strategic and technical approaches necessary to acquire an understanding of the mechanisms underlying stem cell self-renewal and differentiation processes. Ultimately the objective is to provide rational scientific foundations for the application of cell and gene based therapies to the treatment of human disease and injury.

She has established two class II laboratories and 4 fully-equipped genetic diagnosis and genetic research laboratories. She also established and led the Stem cell and Gene therapy division. She is the Chairperson of the Centre of Excellence in Near East University since it was established in 2013 and the head of the Molecular Biology and Genetics Department



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



within the Faculty of Arts and Sciences and Department of Medical Genetics within the Faculty of Medicine. Prof. Dr. Serakinci has established Medical Genetics and Cancer Diagnosis and Research Centre at the Near East University Hospital in 2011 and she has been leading the centre since then while continuing to lead the Aging and Telomere Genetics division at the University of Southern Denmark. She has conducted many research projects and has more than 58 internationally-acclaimed papers. She has also written 7 book chapters. Additionally, her papers on cancer stem cells and genetics has been ranked among the top 10 scientific publications in the world in 2004, 2006, 2010 and ranked 5 in 2014.

Modelling herbal essential oils as cancer therapeutic tool

Essential oils (EOs) are concentrated fractions that derived from aromatic plants which contain multiple chemical constituents suggested to have certain biologic activities as such antioxidant, antimicrobial and antifungal activities. Additionally, within the last decade, essential oils (EOs) have been under study for their use in cancer therapy thus various in vitro studies suggest that many different chemical constituents of EOs may have cytotoxic and anticancer properties. In- human studies have evaluated the use of EOs in a supportive role for conventional cancer therapies.

In our study, a potential anti-cancer activity of Thymus capitatus EOs, Thymol and a chemotherapeutic agent have been investigated by using human telomerase reverse transcriptase immortalized mesenchymal stem cells (hMSC-telo1) and their neoplastic transformed counterpart (hMSC-telo-1-IR).

The possible effect of Thymus capitatus, EO, Thymol, Thymol in combination with Thymus capitatus Eos and Thymol and a chemotherapeutic agent cells were subjected to two different concentrations (0.05 v/v %, and 0.005 v/v %). Cell morphology, proliferation rate, cell viability have been evaluated at 24hr in both cell lines.

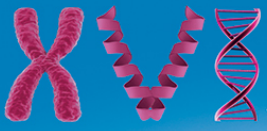
hMSC-telo1 cells were exposed to Thymus capitatus EO at higher dose anti proliferative effect more compared o lower dose. When Thymol used alone which is a main component of thymus capitatus sustained the viability and promoted the proliferation of hMSC-telo1 cells at both doses while the effect effect was greater at higher dose.

In addition, Thymus capitatus EO and Thymol has been applied to the non- tumorigenic (hMSC-telo1) and their counterpart tumorigenic (hMSC-telo-1-IR) cells together with a chemotherapeutic agent and it was observed that for both 0.05 v/v %, and 0.005 v/v % concentrations viability has sustained and the proliferation has promoted significantly compared to the viability and proliferation rate obtained for hMSC-telo1 cells that were exposed only to a chemotherapeutic agent while the viability and proliferation rate has been decreased in hMSC-telo-1-IR cells.

These results may suggests firstly that Thymus capitatus EO alone has anti-proliferative/cancer effect as well as and Thymol. Secondly, use of thymus capitatus Eos in combination with conventional chemotherapeutic agents functions in a manner that reduces the side effects of a chemotherapeutic agent and increase the proliferation of normal cells. Thus the chemotherapeutic agent in combination with Eos kills the cancer cells whilst sparing the normal healthy cells.

Morphological changes have been observed for hMSC telo1 cells after exposure to 0.05 v/v %, and 0.005 v/v % Thymus capitatus EOs cells started to become rounded and then following this cells started to detach from the surface of the flask after 24hrs.

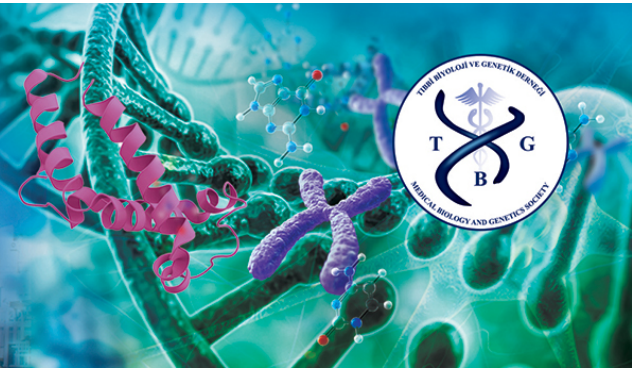
Keywords: Essential oil; Thymol; hTERT; mesenchymal stem cells; cell viability



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI

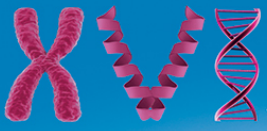


Özlem Kutlu

*Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama
Merkezi, İstanbul*

Doçent Dr. Ozlem Kutlu, 2002 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji bölümünden mezun olmuş, Master ve Doktora eğitimini Japonya'da Kumamoto Üniversitesi'nde Moleküler Biyoloji ve Genetik alanında 2008 yılında tamamlamıştır. 2009-2012 yılları arasında Sabancı Üniversitesi Moleküler Biyoloji, Genetik ve Biyomühendislik programında doktora sonrası araştırmalarını sürdürmüştür. Şu anda, Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SUNUM)'nde Araştırma Grup Lideri olarak, Genetik Hastalıkların Moleküler Regülasyonu, Nanoparçacık-temelli ilaç/gen tedavisi ve yeni medical cihazların biyomedikal uygulamaları konularında çalışmalarına devam etmektedir.

Assoc. Prof. Ozlem Kutlu received the B.S. degree from Department of Biology, Ege University, Izmir, in 2002, and the MSc. and Ph.D. degree from the Department of Material and Life Science, Kumamoto University, Japan, in 2008. During 2009-2012, he was a Postdoctoral Fellow in Molecular Biology, Genetics and Bioengineering Program, Sabanci University, Istanbul. She is currently a Research Team Leader at Sabanci University Nanotechnology Research and Application Center (SUNUM). Her research interest is Molecular Regulation of Genetic Diseases, Nanoparticle-based Drug/Gene Therapy and Biomedical Application of novel Medical Devices.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Salih Şanlıoğlu

Akdeniz Üniversitesi Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya

After graduating from the School of Veterinary Medicine, Selçuk University, Türkiye, Dr. Salih Şanlıoğlu attended the Ohio State University College of Medicine, where he obtained his Master's (1992) and PhD (1996) degrees in the field of Molecular Genetics. Following completion of his postdoctoral training at the Human Gene Therapy Institute of University of Pennsylvania (1997) and internal medicine research fellowship at the Gene Therapy Center of University of Iowa (2002), He has joined the medical faculty of Akdeniz University, Antalya, Türkiye, and subsequently established the first human gene therapy facility in the country. Although, his initial studies mainly concerned gene therapy of cancer, his latest research interest specifically focuses on gene and cell therapy of diabetes due to widespread prevalence of the disease. As being the author of numerous research articles published in the prominent gene therapy journals, he constantly thrives upon novel genetic discoveries, which might one day make diabetes a treatable disease. One of his ultimate goals is to treat diabetes using 3rd generation of HIV-based Lentiviral vectors with antidiabetic properties as he currently works as a full professor at the Human Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University Hospitals and Clinics.

İnsülin Gen Tedavisinde Güncel Gelişmeler

Tip 1 diyabet (T1DM) pankreatik beta hücrelerinin dejenerasyonu ile karakterize insülin yetmezliğine sebep olan bir hastalıktır. Endojen insülin yanıtını taklit edebilecek farklı insülin analogları halen geliştirilme aşamasındadır. Normal şartlar altında bazal insülin hepatik glukoz üretimine yanıt olarak az az salgılanırken, postprandiyal insülin yemek sonrasında yüksek glukoz seviyesine istinaden periyodik olarak salgılır. Sonuç olarak, glukoz kontrollü insülin gen sentezini başarmak; hem gün içinde dalgalı seyreden glukoz seviyelerini kontrol etmek, hem de günlük çoklu insülin enjeksiyonlarından kaçınmak için gereklidir. Diğer hücrelere kıyasla pankreatik beta hücreleri; proinsülinin kontrollü sentezi, glukoz duyarlı mekanizmanın bulunması, prohormon konvertaz sentezi yapması, kontrol edilebilir sekresyon yolağı barındırması itibarıyla farklılık gösterir. Daha önceki deneylerde beta hücresi olmayan hücrelere insülin gen nakli

yeterince başarılı olmadığından, pankreatik beta hücre spesifik insülin gen sentezi sağlamak için insülin promotör proinsülin gen sentezi sağlayan yeni bir lentiviral vektör (LentiİNS) Multisite Gateway Teknolojisini kullanarak geliştirdik. Otoimmunitiyi baskılamak ve glukoz indüklü insülin gen sekresyonunu arttırmak amacıyla tasarlanan LentiVIP gen nakline benzer şekilde, HIV bazlı LentiİNS gen tedavi vektörünün intraperitoneal uygulaması plazma glukozunu düşürerek T1DM'li Wistar sıçanların glukoz toleransını arttırdı. STZ enjeksiyonu sonrasında diyabetik sıçanlar ağırlık kaybederken LentiİNS enjekte edilen sıçanlar normal vücut ağırlığını korudu. Dahası, LentiİNS ve LentiVIP vektörlerinin birlikte kullanımı tek başlarına kullanımlarına oranla T1DM deney hayvan modelinde daha etkili oldu. Son olarak LentiİNS vektörünün in vivo fonksiyonel etkinliği, LentiİNS enfekte CRISPR/Cas9 teknolojisiyle oluşturulmuş insülin gen nakavt pankreatik beta hücrelerinin diyabetik deneklerin böbrek kapsülü altına nakliyle belirlendi. TUBITAK – 215S820

Current Progress in Insulin Gene Therapy

Type 1 diabetes (T1DM) is characterized by autoimmune destruction of pancreatic beta cells leading to insulin deficiency. Thus, both short- and intermediate-acting insulin analogs are under development to mimic endogenous insulin response. Normally, basal insulin is continuously secreted at low levels in response to hepatic glucose output, while postprandial insulin is released periodically in response to high blood glucose levels following a meal. Consequently, achieving glucose regulated insulin gene expression by gene therapy is a great area of interest to meet the demand for fluctuating daily glucose levels and necessary to avoid multiple daily injections of insulin. Compared to other cell types, pancreatic beta cells possess unique features such as controlled transcription and translation of proinsulin, presence of glucose-sensing machinery, prohormone convertase expression, and a regulated secretory pathway. Since previous insulin gene delivery to non-beta cell types did not produce successful results, a new lentiviral vector (LentiİNS) with insulin promoter hooked up to proinsulin encoding gene was generated using Multisite Gateway Technology to sustain pancreatic beta cell-specific insulin gene expression. Similar to LentiVIP gene delivery which was designed to suppress autoimmunity and facilitate glucose induced insulin secretion, intraperitoneal delivery of HIV-based LentiİNS gene therapy vector resulted in lowering of plasma glucose and improved glucose tolerance of Type 1 diabetic Wistar rats. While diabetic rats exhibited weight loss following STZ injection, LentiİNS injected rats retained normal body weight. Additionally, combinatorial use of LentiİNS and LentiVIP vectors was more effective than their individual administration in treating T1DM. Lastly, in vivo functional efficacy of LentiİNS vectors was determined by transplantation of LentiİNS infected insulin gene knockout pancreatic beta cells generated using CRISPR/Cas9 technology under the kidney capsule of diabetic animals. TUBITAK – 215S820



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Serap Erkek

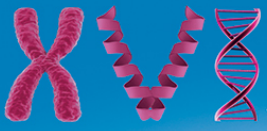
İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir

Mesane Kanselerinde Epigenetik Dzenlemeler

Mesane kanseri, dünya çapında en yaygın kanserlerden biridir ve her yıl 150.000'den fazla ölüme neden olmaktadır. Histopatolojik olarak kas invazif mesane kanseri (MIBC) ve kas invazif olmayan mesane kanseri (NMIBC) olarak sınıflandırılır. Son on yılda hem NMIBC hem de MIBC'nin mutasyonel profilini karakterize eden birkaç çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmaların sonuçları, kromatinin düzenlenmesinde görevli genlerin mutasyon oranının mesane kanserinde özellikle yüksek olduğunu açıkça ortaya koymuştur. Mesane kanseri hastalarının % 80'i, en az bir epigenetik faktör için mutasyona uğramış olup, bu durum bu kanserde epigenetik mekanizmaların deregülasyonuna işaret etmekte ve mesane kanserini bir kromatin hastalığı yapmaktadır. Biz laboratuvarımızda mesane tümörü oluşumunda rol oynayan epigenetik mekanizmaların tanımlanması ile ilgileniyoruz. Bu çalışmada, NMIBC ve MIBC'ya özgü aktif kromatin bölgelerini ve transkripsiyon regülasyon ağlarını tanımlamayı amaçlamaktayız. Aktif gen regülasyon bölgelerini tanımlamak amacıyla kullanılan yöntem H3K27ac (Histon H3 üzerindeki Lizin 27'nin asetilasyonu) kromatin immünopresipitasyon dizilemedir (ChIP-seq). H3K27ac aktif kromatin bölgelerini belirlemek için kullanılan bir histon işaretidir. Ön bulgularımız, hücrelerin invazif özellikleriyle bağlantılı olduğu bilinen CDH1, VIM, PLAT (TPA) ve RASA3 genlerinin promoter bölgelerinde MIBC ve NMIBC'de farklılık gösteren H3K27ac sinyalinin varlığına işaret etmektedir. Projemizin sonraki aşamasında, NMIBC ve MIBC'yi karakterize eden transkripsiyon faktörlerini ve etkileşimli kromatin faktörlerini tanımlayacağız. Elde edilen sonuçların mesane kanserine özgü yeni tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Epigenetic regulation of bladder cancer

Bladder cancer is one of the most common cancers worldwide and it causes more than 150.000 deaths each year. Histopathologically, it is classified as muscle invasive bladder cancer (MIBC) and non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC). There were several studies characterizing the mutational landscape of both NMIBC and MIBC in the last decade. Results from these studies made it clear that mutation rate in chromatin modifier genes was especially high in bladder cancer. 80% of bladder cancer patients are mutant for at least one chromatin modifier, pointing out to the deregulation of epigenetic mechanisms in this cancer and making the bladder cancer as a disease of chromatin. We are interested in identification of the epigenetic mechanisms involved in bladder tumorigenesis. In this study, we aim to investigate the transcriptional regulatory networks differentially regulated between muscle invasive bladder cancer (MIBC) and non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC) cell lines. We use H3K27ac chromatin immunoprecipitation followed by sequencing (ChIP-seq) to define active regulatory regions in NMIBC and MIBC. Our preliminary findings suggest differential H3K27ac occupancy in MIBC and NMIBC around promoter regions of several genes such as CDH1, VIM, PLAT (TPA) and RASA3 genes which are known to be involved in invasive characteristics. Next, we will identify the transcriptional factors and interacting chromatin factors differentially involved in active regulatory regions characterizing NMIBC and MIBC. We believe that obtained results will provide fundamental insights about disrupted molecular mechanisms in bladder cancer, which would ultimately aid development of novel diagnostic and therapeutical strategies in this deadly cancer.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Sibel Oğuzkan Balcı

Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

Gaziantep 1969 doğumlu Prof. Dr. Sibel Oğuzkan Balcı 1991 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun olduktan sonra 1993 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimini tamamlamıştır. 1995-1997 yıllarında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında, 1997-2003 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmıştır. Nörofibromatozis tip 1 ve tip 2'de moleküler analizler konusunda laboratuvar deneyimlerini arttırmak amacıyla Kasım 2002'de Almanya'nın Hamburg şehrinde bulunan "Department of Maxillofacial Surgery, Laboratory for tumor biology and development, University of Hospital Hamburg-Eppendorf" isimli merkezde misafir araştırmacı olarak çalışmıştır. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında 2003 yılında Tıbbi Biyoloji alanında Bilim Doktorluğu ünvanını almıştır. 2003-2009 yıllarında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında, öğretim görevlisi ve Yrd. Doç. Dr. olarak çalışmıştır. Dr. Oğuzkan Balcı 2009 yılında Tıbbi Biyoloji alanında doçentlik ünvanı, 2014 yılında ise profesörlük ünvanı almıştır. Halen Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı olarak görevini sürdürmektedir.

Alanında SCI/SCI-EXP indekslere giren dergilerde yayımlanmış olan 40 adet uluslararası çalışması, 9 adet ulusal yayını, 61 adet uluslararası ve 39 adet ulusal bildirisi bulunmaktadır. Gaziantep ve Hacettepe Üniversitelerinin Araştırma Fonları ile Tübitak tarafından desteklenmiş olan toplam 16 ayrı projede görev almıştır. Prof. Dr. Sibel Oğuzkan Balcı'nın araştırma konuları nörojenetik, kanser genetiği ve metabolik hastalıklardır. Son yıllarda çalışmaları obezite ve diyabetteki bilişsel fonksiyonların değişiminin altında yatan moleküler mekanizmaları, hayvan modelleri üzerinde analiz etmeye yöneliktir.

Professor Dr. Sibel Oğuzkan Balcı who was born in Gaziantep in 1969, after graduating from Hacettepe University, Faculty of Science, Department of Biology in 1991, she completed her master's degree in 1993 at Gaziantep University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology and Genetics. She worked as a research assistant in the

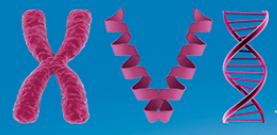
Department of Medical Biology of Gaziantep University Institute of Health Sciences between 1995-1997 and as a research assistant in the Department of Medical Biology of Hacettepe University Institute of Health Sciences between 1997-2003. In order to increase her laboratory experience about molecular analyzes of neurofibromatosis type 1 and type 2, in November 2002, she worked a visiting researcher at the Department of Maxillofacial Surgery, Laboratory for Tumor Biology and Development, Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany. She received the title of Doctor of Science in the field of Medical Biology in 2003 at Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology. In the years 2003-2009, She worked as lecturer and Asst. Prof. Dr. in the Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Gaziantep University. Dr. Oğuzkan Balcı received the title of associate professor in the field of Medical Biology in 2009 and professor in 2014. She is currently the Head of the Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Gaziantep University. She has 40 international studies which published in SCI / SCI-EXP indexes, 9 national publications, 61 international and 39 national declarations. She took part in 16 different projects supported by TUBITAK and Research Funds of Gaziantep and Hacettepe Universities. Professor Dr. Sibel Oğuzkan Balcı's research interests are neurogenetics, cancer genetics and metabolic diseases. In recent years, her studies have focused on analyzing the molecular mechanisms underlying the change in cognitive functions in obesity and diabetes on animal models.

DENEYSEL OBEZİTEDE BİLİŞSEL PERFORMANSA MOLEKÜLER YAKLAŞIM

Obezite dünyada görülen hastalıkların, en yaygın risk faktörleri arasında beşinci sırada yer alır. Türkiye obezitenin en çok görüldüğü üçüncü ülkedir. Önemli bir sağlık problemi olan obezite, başta kardiyovasküler ve endokrin sistem olmak üzere vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyen, dünya genelinde sıklığı giderek artan, ciddi morbitide ve mortaliteye sahip bir hastalıktır.

Obezite; oksidatif stresin artması, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, insülin direncinin ortaya çıkışı ile merkezi sinir sisteminde bilişsel performansı etkilemektedir.

Epidemiyolojik çalışmalar ve hayvan modelleri ile yapılmış araştırma sonuçları obezitenin beyin üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır. Obezite ve bilişsel fonksiyon ilişkisini kanıtlayan bilgiler çoğunlukla deneysel obezite modellerinden elde edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan obez hayvan modelleri diyetle indüklenerek oluşturulmakta ve sıklıkla yüksek yağlı diyet (HFD) kullanılmaktadır. Diyetle indüklenen obezitede bilişsel performansın değerlendirilmesi; hipokampal uzamsal öğrenmenin "Radyal kol labirenti" ya da "Morris su tankı" yöntemleri ile saptanarak yapılmaktadır. Yapılan deneysel obezite çalışmalarında yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, obezitenin kısa dönem ve uzamsal belleği zayıflatığı saptanmıştır ve bu etkinin ortaya çıkmasında inflamasyon potansiyel mekanizma olarak öne sürülmektedir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Yüksek yağlı diyet ile uzun süreli beslenen rodentlerde inflamasyonun indüklendiği bunun sonucunda kan beyin bariyerinin geçirgenliğinin bozulmuş olduğu gösterilmiştir. Memelilerde öğrenme ve bellek için beyin önemli bir merkezi olan hipokampus üzerinde yapılmış olan araştırmalar, HFD ile indüklenen obezitede bozulmuş kan beyin bariyerinin hipokampusta bilişsel fonksiyon bozukluğunun altında yatan önemli bir mekanizma olduğuna işaret etmektedir. Obezite ile indüklenen inflamasyon sonucunda hipokampus progenitor hücrelerin bölünmesi inhibe olur. Bu durum bilişsel performansı doğrudan etkilemektedir. Diyetle indüklenmiş obezite modellerinden elde edilmiş bulgulardan biri de hipokampus ve hipotalamusta inflamasyonla indüklenen endoplazmik retikulum stresinin (ERS) ortaya çıkmasıdır. İnflamasyon ve ERS birbirlerini tetiklemektedir ve bir kısır döngü oluşmaktadır. Hücre içi kronik ERS nöronal apoptozisi aktive etmekte, nörogenesizi ise azaltmaktadır. Buna ilaveten ERS'nin hipokampus ve hipotalamusta insülin ve leptin sinyal yollarını bozarak leptin ve insülin direnci oluşturduğu gösterilmiştir. Vücut enerji dengesinin ana düzenleyicisi olan leptin hormonu, besin alımı ve vücut ağırlığının düzenlenmesindeki etkilerini hipotalamus ve hipokampus aracılığı ile gerçekleştirir. Leptin sinaptik plastisite için anahtar moleküldür. Çeşitli araştırma sonuçları obezitede görülen düşük leptin düzeyinin bilişsel fonksiyonlar üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır. Obezitenin bilişsel performans üzerindeki etkisini açıklayan olası mekanizmalar olmasına karşın, belirli sinyal yolları üzerinde detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Etkin bir tedavi ve önleme ancak potansiyel mekanizmaların tamamen aydınlatılması ile mümkündür.

MOLECULAR APPROACH TO COGNITIVE PERFORMANCE IN EXPERIMENTAL OBESITY

Obesity is the fifth most common risk factor for diseases worldwide. Turkey is the third country which is most seen obesity. Obesity, which is an important health problem that can lead to various disorders and even deaths, is a disease with serious morbidity and mortality increasing worldwide, affecting all the organs and systems of the body, especially the cardiovascular and endocrine system. Obesity affect cognitive performance with increased oxidative stress, mitochondrial dysfunction and the emergence of insulin resistance in the central nervous system. The results of epidemiological studies and animal models reveal the effects of obesity on the brain. Information proving the relationship between obesity and cognitive function is mostly obtained from experimental obesity models. Obese animal models used in the studies are induced by diet and frequently used high fat diet (HFD). Assessment of cognitive performance in diet-induced obesity; hippocampal spatial learning is determined by "Radial arm maze" or "Morris water maze" methods. In experimental obesity studies, it has been found that obesity weakens short term and spatial memory in mice fed HFD and inflammation is suggested as a potential mechanism for the emergence of this effect. It has been shown that inflammation is induced in rodents fed with HFD for a long time and as a result, permeability of blood brain barrier is impaired. Studies on the hippocampus, an important brain center for learning and memory in mammals, suggest that impaired blood brain barrier in HFD-induced obesity is an important mechanism underlying cognitive dysfunction in the hippocampus. Obesity-induced inflammation results in the division of progenitor cells in the hippocampus. This situation directly affects cognitive performance. One of the findings from dietary-induced obesity models is the emergence of inflammation-induced endoplasmic reticulum stress (ERS) in the hippocampus and hypothalamus. Inflammation and ERS trigger each other and a vicious cycle occurs. Intracellular chronic ERS activates neuronal apoptosis and reduces neurogenesis. In addition, ERS has been shown to disrupt the insulin and leptin signaling pathways in the hippocampus and hypothalamus to form leptin and insulin resistance. The main regulator of body energy balance, leptin hormone, acts on nutrient uptake and body weight regulation through the hypothalamus and hippocampus. Leptin is a key molecule in synaptic plasticity. Various research results reveal the effect of low leptin levels on cognitive functions in obesity. Although there are possible mechanisms that explain the effect of obesity on cognitive performance, detailed studies are needed on specific signaling pathways. An effective treatment and prevention is only possible by fully elucidating the potential mechanisms.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



Stefan Dimitrov

Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir

2018-present: Senior Scientist, Head of Laboratory
“Chromatin Biology and Epigenetics, Director of Basic and Translational Research Program, Izmir Biomedicine and Genome Center (IBG-izmir)

1996-2017: First Class Director of Research (Full Professor equivalent position), National Center of Scientific Research (CNRS)

Head of Laboratory "Chromatin and Epigenetics" Institute Albert Bonniot, Grenoble

Co-Head of team “Chromatin Structure and Function” Ecole Normale Supérieure de Lyon, Lyon

1992-1995: Visiting Scientist, Laboratory of Molecular Embryology, NICHD, NIH, Bethesda, USA.

Laboratory Chief: Dr. A. P. Wolffe.

1991-1992: Visiting Professor at The Cancer Research Center, Laval University, Quebec, Canada. Laboratory Chief: Dr. T. Moss

1990: Visiting Fellow at The Institute for Experimental Cancer Research, Chemin des Boveresses 155, CH-1066 Epalinges, S./Lausanne. Laboratory Chief: P. Wellauer

1989-1992: Director of Research at the Institute of Molecular Biology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria.

1983-1988: Assistant Professor at the Institute of Molecular Biology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria.

1983: Ph. D., Molecular Biology, Institute of Molecular Biology, Sofia, Bulgaria and the Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia

1974-1976: B. S., Physics, Sofia University, Department of Solid State Physics, Sofia, Bulgaria.

1970-1974: Undergraduate student, Department of Solid State Physics, Sofia University, Sofia, Bulgaria

Main Awards: Foreign Member of the Bulgarian Academy of Sciences, elected 2008

Foreign Member of the National Academy of Sciences, India, elected 2016

Awards

-1995-1999 ATIP (the highest award for young scientist in France)

- 2006 Ranked among the first top 3% French biomedical scientists

- 2007-2009 Leader of outstanding research group, the National Ligue against Cancer (France)

- 2008-2009 Medical Research Council (INSERM) award for Excellence in Research

- 2010 Team A+ , the highest team ranking for excellence in science in France

- 2011-2013 Outstanding research group, The National Ligue against Cancer

In 2008 I was elected Foreign Member of the Bulgarian Academy of Sciences for “seminal contributions in the field of epigenetics” .

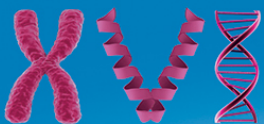
Very recently, in 2016, I was elected Foreign Member of the National Academy of Sciences, India (NASI). This is an extremely prestigious award. The number of Foreign Fellows of NASI is of 89 scientists and among them are Prof. Cohen Tannoudji (Nobel Prize Winner, Physics), Prof. Bruce Alberts (one of the founders of molecular biology and Former President of the USA Academy of Sciences), Prof. Inder Verma (famous molecular biologist and Editor in Chief of PNAS, USA), Sir David C. Baulcombe (the discoverer of RNAi) and many other eminent colleagues.

Management experience

I was the founder of the interdisciplinary Institute « Laboratoire Joliot Curie » at Ecole Normale Supérieure de Lyon (ENS), which is one of the most prestigious Universities in France.

I was deeply implicated in the establishment of the Izmir Biomedicine and Genome Center (iBG- izmir), the biggest cell and molecular biology Center in Turkey. The Center was inaugurated on the fall of 2015. I was, together with Prof. Aziz Sancar (Nobel Prize winner, 2015), Prof. Christian Bréchet (President, Institut Pasteur), Prof. Maria Leptin (Director, EMBO), Prof. Iain Mattaj (General Director, EMBL) and other colleagues, Member of the Science Advisory Board (SAB) of iBG-Izmir and Director of the SAB during the period 2015-2018. Since November 2018 I have a Senior Scientist position at iBG and I am Director of Basic and Translational Research Program.

Since 2003, I was working in close collaboration with scientists from India. I have been involved in depth in the development of Indian Epigenetics. Of note, in 2003 there were only two labs working in the field, while now several dozens of labs in India are focused on epigenetic problem



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Selected publications (2010-2019)

I have spent all my scientific career working in the field of epigenetics. I have published 138 papers. Six of my papers were ranked by Faculty 1000. My works were cited more than 8700 times. My h-index is 48. My I-index is 90.

Below are listed some of my most important recent publications:

1. Garcia-Saez I, Menoni H, Boopathi R, Shukla MS, Soueidan L, Noirclerc-Savoye M, Le Roy A, Skoufias DA, Bednar J, Hamiche A, Angelov D, Petosa C, Dimitrov S. (2018) Molecular Cell. 2018 Dec 6;72(5):902-915.e7. doi: 10.1016/j.molcel.2018.09.027. Impact factor (IF) = 14,5
2. Menoni et al. (2018) « Structure of a H1-bound nucleosome array reveals an untwisted two-start chromatin fiber conformation », Mol. Cell, :72(5): 902-915 Impact factor (IF) = 14
3. Bednar, J. et al. (2017) « Structure and dynamics of the nucleosome bound to linker histone H1 » Mol. Cell 66, 384-397 (ranked by Faculty 1000, "F1000 Prime") Impact factor (IF) = 14
3. Papin, A. et al. "Combinatorial DNA methylation code at repetitive elements" Genome Research, 2017 Mar 27. pii: gr.213983.116. doi: 10.1101/gr.213983.116. [Epub ahead of print] Impact factor (IF) = 14, 6
4. Roulland, Y., et al. « The flexible ends of CENP-A nucleosome are required for mitotic fidelity », Mol. Cell, 2016, 18;63(4):674-85. Impact factor (IF) = 14
5. Latryck, C., et al. « YL1, H2A.Z-specific histone chaperone, required for ATP-dependent deposition of H2A.Z in chromatin », Nature Struct & Mol. Biol. 2016 Apr;23(4):309-16. Impact factor (IF) = 13.3
6. Obri, A., et al. (2014) « ANP32E is a histone chaperone that removes H2A.Z from chromatin » Nature (full article), 505(7485):648-53. Impact factor (IF) = 41.4
7. Goutte-Gattat, D. et al. (2013) « The phosphorylation of the CENP-A NH2-terminus in mitotic centromeric chromatin is required for kinetochore function », Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110, 8579- 8584 Impact factor (IF) = 9.6
8. Mayer, S., Becker, N., Syed, S., Goutte-Gattat, D., Shukla, M., Hayes, J., Angelov, D., Bednar, J., Dimitrov, S. & Everaers, R. (2011) « From crystals, footprints and cryo-electromicrographs to large and soft structures : nanoscale

modeling of the nucleosomal stem » Nucleic Acids Research 39(21):9139-54 Impact factor(IF) = 10.1

9. Montel, F., Castelnovo, M., Menoni, H., Dimitrov*, S. & Faivre-Moskalenko*, C. (2011) " RSC remodelling of oligonucleosomes: an atomic force microscopy study", Nucl. Acids. Res. 39(7), 2571-2570 Impact factor(IF) = 10.1

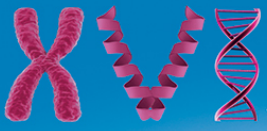
(*corresponding authors)

10. Chantalat, S. et al. (2011) « Histone H3 at lysine 36 is involved in the formation of constitutive and facultative heterochromatin », Genome Research 21(9):1426-37 Impact factor (IF) = 13,6

11. Syed, S. H., et al. (2010) "Single base resolution mapping of H1-nucleosome interactions and 3D organization of the nucleosome", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 9620-9625 Impact factor (IF) = 9.8

12. Shuaib, M. et al. (2010) "HJURP binds CENP-A via a highly conserved N-terminal domain and mediates its deposition to centromeres" Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107(4):1349-54 Impact factor (IF) = 9.8

13. Shukla, M., (2010) "Remosomes: novel RSC generated non-mobilized particles with □180 bp of DNA loosely associated with the histone octamer", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107(5):1936-41 (ranked with score 12 at Faculty 1000) Impact factor (IF) = 9.8



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Suat Erdoğan

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne

Prof. Dr. Suat Erdoğan 1990 Yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldu. Yükseköğretim Kurulu (YÖK) yurtdışı doktora bursu ile 1994-1997 yılları arasında Glasgow Üniversitesi Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Enstitüsünde doktorasını tamamladı. Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında sırasıyla 1998'de Yrd. Doçent, 2003'de Doçent ve 2009'da Profesör oldu. Şubat 2013'de Zirve Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya anabilim dalında 2 yıl görev yaptıktan sonra Şubat 2015'de Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalına geçiş yaptı. Halen aynı anabilim dalı başkanı olarak görev yapmaktadır.

Dr. Suat Erdoğan'ın bu güne kadar yayınlanmış 50'si uluslararası dergilerde olmak üzere toplam 60'ın üzerinde makalesi, 50 ulusal ve uluslararası kongre tebliği ve konferansları bulunmaktadır. Yapmış olduğu çalışmalara 1700 atıf yapılmıştır. Altısı TÜBİTAK destekli olmak üzere toplam 15 projede yönetici, altısı TÜBİTAK olmak üzere toplam 10 projede ise araştırmacı olarak çalışmıştır. Araştırmaları son yıllarda kanser ve kanser kök hücreleri üzerinde yoğunlaşmıştır.

Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) tarafından 2005 yılı Üstün Başarılı Genç Bilim İnsanlarını Ödüllendirme Programı kapsamında Seçkin Genç Bilimci Ödülü'ne layık görüldü (GEBİP/2005). Avrupa Komisyonu tarafından 2004'den günümüze Avrupa Birliği FP6, FP7 çerçeve ve Horizon 2020 programlarında proje değerlendiricisi/hakem olarak görev yapmaktadır. Ekim 2010-Ekim 2014 yılları arasında dört yıl süresince TÜBİTAK-TOVAG Danışma Kurulu üyeliği görevini yürüttü. Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Enstitü Müdürlüğü, Anabilim Dalı ve Bölüm Başkanlıkları, Üniversite Senato Üyeliği gibi çeşitli kurullarda üyeliklerde bulundu. Dr. Suat Erdoğan evli ve iki çocuk babasıdır.

Professor Dr. Suat Erdogan graduated from Ankara University Faculty of Veterinary Medicine in 1990. He completed his PhD at the Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Glasgow University (Scotland, UK) between 1994-1997 with the scholarship of Higher Education Council (YÖK). He became Associate Professor in 2003 and Professor in 2009. After working at Zirve University Medical Faculty Department of Medical Biochemistry for 2 years in February

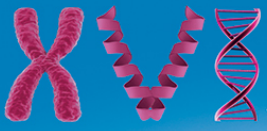
2013, he moved to Trakya University Faculty of Medicine Medical Biology Department. He is currently the head of the department.

He has over 60 articles published in 50 international peer reviewed journals, 50 national and international congress papers and conferences. 1700 citations have been cited for his work. He has worked as a manager in 15 projects, 6 of which are supported by TUBITAK, and as researcher in 10 projects, 6 of which are TUBITAK. His research has focused on cancer and cancer stem cells in recent years.

2005 by the Academy of Sciences of Turkey within the scope Outstanding Young Scientists Award Program was awarded the Distinguished Young Scientist Award GEBİP/2005). He has been working as a project evaluator/referee in European Union FP6, FP7 framework and Horizon 2020 programs since 2004 by the European Commission. Between October 2010 and October 2014, he served as a member of TUBITAK-TOVAG Advisory Board for four years. He served as Dean of Faculty of Veterinary Medicine, Director of Institute, Department and Department Heads, University Senate Member and member of various boards. Dr. Suat Erdoğan is married and has two children.

Kanser kök hücrelerinin terapi direnci, tümör nüksü ve kanser tedavisindeki önemi

Kanser kök hücrelerinin (KKH) kanser hastalarında terapi direncinin gelişimi, hastalığın nüksü ve metastazından sorumlu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır. Bu hücreler, tümör kütleleri içerisinde çok düşük oranlarda bulunmasına rağmen tümörü başlatabilecek potansiyele sahiptirler. KKH'lerin "köklülük-stemness" olarak adlandırılan kendini yenileme kabiliyetleri, farklılaşma kapasiteleri ve G0 evresinde sessiz kalma özellikleri ile normal kök hücrelere oldukça benzerlik gösterir. Nanog, Oct3/4, Sox2, Klf4 ve c-Myc gibi transkripsiyon faktörlerinin yüksek ifadesi ve ABC taşıyıcısının aşırı ekspresyonu, onları kemoterapiye ve radyoterapiye karşı dirençli hale getirir. Ayrıca KKH'lerinin mikroçevresi onları bağışıklık sisteminin saldırılarından ve fenotipik değişikliklerden koruyarak, kök hücre özelliklerinin sürekliliğini sağlar. KKH'lerin yüksek plastisitesi, hastalığın komplikasyonuna katkıda bulunan tümör içi heterojeniteye neden olur. Hücrelerin bu biyolojik özelliği, kök/kök-olmayan ve sessizlik/proliferatif durum gibi çoklu fenotiplere geçişlerini kolaylaştırarak tedaviden kolayca kaçmalarına olanak verir. Hedgehog, Wnt/β-katenin, Notch ve PI3K/Akt/mTOR gibi sinyal yollarının aşırı aktivasyonu, KKH'lerin apoptozu önlemesini ve tedaviye direnç geliştirmesine neden olur. Yapılan pek çok klinik araştırmaya göre, tümör dokusunda yüksek düzeyde aldehit dehidrojenaz aktivitesi bulunması, CD44 veya CD133 gibi kök hücre yüzey markörlerinin aşırı ekspresyonu kötü klinik prognoz ile ilişkilidir. Bu özellikler KKH'lerin hücrel rezervuar oluşturmak için anti-proliferatif tedaviden kaçınmalarına temel hazırlar. KKH'lerini hedeflemek veya onlara özgü hücre sinyal yollarını bloke etmek, klasik antikanser tedavilerin etkinliğini artırmak için yararlı bir strateji olabilir. Bununla



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

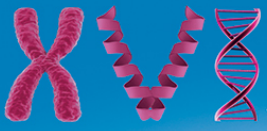
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



birlikte, KKH fenotipindeki heterojenite onkoloji hastalarının KKH-hedefli tedavisini zorlaştırmaktadır.
Anahtar kelimeler: Kanser, kanser kök hücre, farklılaşma, nüks, ilaç direnci.

Cancer stem cells in drug resistance, tumor recurrence and their therapeutic implications in cancer treatment

There is strong evidence that cancer stem cells (CSC) are responsible for therapy resistance, tumor recurrence and metastasis in patients. These cells have the potential to initiate the tumor although they are found in very low rates in tumor mass. Self-renewal ability, differentiation capacity and quiescence characteristics of CSCs are quite similar to normal stem cells, which are collectively referred to as “stemness” properties. Expression of the transcription factors such as Nanog, Oct3/4, Sox2, Klf4 and c-Myc, and overexpression of ABC transporters makes them able to resist chemotherapy and radiotherapy. Moreover, microenvironment of CSC supports the continued ability to protect them from the attack of the immune system and from phenotypic changes. Because of its high plasticity nature, CSCs cause intra-tumor heterogeneity, contributing to the complication of the disease. This feature of CSCs facilitates their transition to multiple phenotypes such as stem/non-stem, quiescence/proliferation, allowing them to easily escape treatment. Undoubtedly, patients with high aldehyde dehydrogenase activity, high expression of stem cell surface markers such as CD44 and CD133 have poor clinical prognosis. In addition, over activation of signaling pathways such as hedgehog, Wnt/ β -catenin, Notch and PI3K/Akt/mTOR allow CSCs to avoid apoptosis, provide resistance to treatment. These features provide a basis for CSCs to avoid from anti-proliferative therapy to form a cellular reservoir. Targeting CSCs or de-regulating CSC-specific cell signaling pathways may be a useful strategy to increase the effectiveness of classical anticancer treatments. However, the lack of a generalized CSC phenotype complicates CSC-targeted treatment of oncology patients.
Keywords: Cancer, cancer stem cells, differentiation, relapse, drug resistance



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Şermin Genç

Eylül Üniversitesi, Sinirbilimler Anabilim Dalı, İzmir

Prof. Dr. Dr. Şermin Genç, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesinden in 1992 yılında mezun oldu. Nöroloji uzmanlık eğitimini 1998 yılında ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik doktorasını 2003 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi'nde tamamladı. Kendisi halen Dokuz Eylül Üniversitesi, Sinirbilimler Anabilim dalı'nda Profesör olarak çalışmaktadır. Kendisi aynı zamanda 2015 yılından beri İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi'nde araştırma grup lideridir. Grubu nörodejenerasyon ve nöroinflamasyonun moleküler mekanizmasını araştırmakta ve nöronu hasardan koruyucu tedavi stratejilerine odaklanmıştır. Son yıllarda grubu mikroRNA moleküllerinin pek çok nörolojik ve psikiyatrik hastalıktaki rollerini de araştırmaktadır. Kendisi Loreal Bilim Kadını, TÜBA-GEBİP, TÜBİTAK Teşvik ve Eczacıbaşı Bilim Ödülü gibi pek çok prestijli ödülün sahibidir.

<https://www.ibg.edu.tr/research-programs/groups/genc-lab/>
https://scholar.google.com/citations?hl=en&user=Ujm402YA AAAJ&view_op=list_works

Dr. Şermin Genç was graduated from Medical Faculty of Ege University in 1992. She finished Neurology residency in 1998 and earned her PhD degrees from Department of Medical Biology and Genetic in 2003 at Dokuz Eylul University. She has been working as a Professor at Department of Neuroscience, Dokuz Eylul University. She is also a research group leader in İzmir Biomedicine and Genome Center since 2015. Her group investigates the molecular mechanisms in neurodegeneration and neuroinflammation and assess novel treatment strategies for neuroprotection. Recent years, her group focuses on the role exosomes in several neurological and psychiatric disorders. She has received some prestigious awards including Loreal Women in Science, TUBA-GEBİP, Incentive award from TÜBİTAK and Science award from Eczacıbaşı.

<https://www.ibg.edu.tr/research-programs/groups/genc-lab/>
https://scholar.google.com/citations?hl=en&user=Ujm402YA AAAJ&view_op=list_works

Ekzozomal mikroRNA'ların santral sinir sistemindeki etkileri

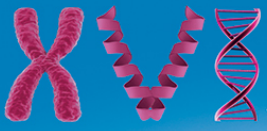
Ekzozomlar normal veya patolojik durumlarda çeşitli hücrelerden salınan hücre dışı veziküllerdir. Günümüzde ekzozomların beyin omurilik sıvısı da dahil olmak üzere pek çok vücut sıvısında olduğu gösterilmiştir. RNA içeren ekzozomlar 1900'lü yılların sonlarında tanımlanmıştır. Diğer hücrelere transfer edilen RNA moleküllerinden protein sentezi gerçekleşirken miRNA molekülleri ise hedef hücrenin gen ekspresyonunu module eder. Son yıllarda yapılan çalışmalar ekzozomların pek çok beyin fonksiyonuna ve santral sinir sistemi hastalığının patogeneze katıldığını göstermiştir. Ayrıca, ekzozomal miRNA molekülleri kandan izole edilerek tanı ve klinik seyri belirlemek amacıyla pek çok santral sinir sistemi hastalığında biyobelirteç olarak kullanılabilirler. İlaveten ekzozomların düşük immünojenite ve toksisiteyi, dolaşımda ve dokuda yüksek stabiliteyi ve hedef dokuda birikebilmeleri onları iyi ilaç taşıyıcıları haline getirmektedir. Ekzozomal miRNA molekülleri ile beyinde miRNA ekspresyonunun değiştirilmesi nörolojik ve psikiyatrik hastalıklar için yeni bir tedavi yaklaşımı olabilir.

The impact of microRNAs in exosomes in central nervous system

Exosomes are small extracellular vesicles released under normal or pathological conditions from various cells. Today, exosomes have been shown to be present in all body fluids, including cerebrospinal fluid. They carry several cargo molecules including mRNA, protein and miRNA. In fact, RNA-containing exosomes were described in the late 1900's. These RNA molecules are transferred to other cells and the transferred mRNA molecules in the target cell are converted to protein while the miRNAs modulate gene expression. In recent years, several studies showed that exosomes have important role in brain functions and also the pathogenesis of central nervous system disorders. Additionally, exosomal miRNAs can be isolated from blood and used as potential novel diagnostic and prognostic biomarkers for several central nervous system diseases. Furthermore, exosomes are good drug-carrier due to their low immunogenicity and toxicity, high stability in circulation and tissue, and accumulation in the target tissue. Alteration of the expression miRNAs in the brain through miRNAs containing exosomes could be novel therapeutic approach in neurological and psychiatric disorders.

References

1. Zhang et al(2019). Nat Rev Neurol 10.1038/s41582-018-0126-4.
2. Shi et al(2019). Nat Rev Neurol Prog Neurobiol 10.1016/j.pneurobio.
3. Osorio-Querejeta et al(2018).Front Mol Neurosci 10.3389/fnmol.
4. Osier et al(2018). Mol Neurobiol. 10.1007/s12035-018-1054-4.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



Tuğba Bağcı Önder

Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul

Dr. Tuğba Bağcı Önder graduated from the Department of Molecular Biology and Genetics, Bilkent University in 2002. She then earned her Ph.D. degree in Neuroscience at Sackler School of Graduate Biomedical Sciences at Tufts University in 2008. She pursued her postdoctoral work at Harvard Medical on the development of tumor-specific pro-apoptotic therapies in animal models of brain cancer. In 2012, she joined Koç University School of Medicine and established the Brain Cancer Research and Therapy Laboratory. Her research group is currently working on the understanding of epigenetic regulation of cell death, therapy resistance, and migration in brain cancers. Her work is supported by FP7 Programme-Marie Curie Career Integration Grant, TÜBİTAK, Koç University Translational Research Center (KUTTAM) and Royal Society, UK. Dr. Bağcı Önder is also a recipient of Barbara Talamo Trainee, UNESCO-L'oreal Women in Science, and BAGEP awards.

Kanserlerde terapi direncinin epigenetik mekanizmaları

Tümör hücrelerindeki ilaç direncinin en önemli sebeplerinden birisi, gen ifade örüntülerinin ve transkripsiyonel programların yanlış şekilde düzenlenmesidir. Gen ifadesi ve transkripsiyonel aktivite, kromatin yapısındaki değişiklikler ve epigenetik düzenlemeye tabidir. Bu düzenlemelerde, kromatin üzerinde gerçekleşen DNA metilasyonu, histon asetilasyonu, metilasyonu vb. modifikasyonlar nedeniyle gen bölgeleri transkripsiyona kapalı ya da açık duruma geçer ve genlerin ifadesi kontrol edilir. Bu modifikasyonları yapan, silen ve okuyan pek çok kromatin düzenleyici protein bulunmaktadır ve bu proteinlerin tümörlerdeki rolleri son zamanlarda yoğun bir şekilde araştırılmaya başlanmıştır. Bu proteinlerin başlıcaları, DNA metiltransferazlar (DNMT), histone deasetilazlar (HDAC), histone asetiltransferazlar (HAT), histone metiltransferazlar (HMT) ve histon demetilazlar (HDM) kategorilerinde gruplanabilir.

Laboratuvarımızda yapılan çalışmalar, epigenetik ve kanserlerde ilaç direncinin ilişkisini araştırmaya yönelik olup, işlev kaybı taramalarını (loss-of-function screen) kullanmaktadır. Bu taramalar, genetik ve farmakolojik olmak üzere iki yaklaşımla yapılmaktadır. İlkinde shRNA ve

CRISPR/Cas9 kütüphanelerini, ikinci yaklaşımda ise ilaç kütüphanelerini kullanmakta ve ilaç direncini değiştirme kapasitesine sahip yeni moleküler mekanizmaları araştırmaktayız. Bu çalışmalarda, yeni nesil sekanslama ile kemoterapiye duyarlı ve dirençli tümör hücre popülasyonlarında gen ifade örüntü değişimlerini incelemekte ve ilaç direncinin haritalanması ile epigenetik ilişkisini ortaya koymayı hedeflemekteyiz. Bu konuşmada, son zamanlarda yapılan bu çalışmalardan örnekler sunulacaktır.

Anahtar kelimeler: Kanser, Glioblastoma, Terapi direnci, Epigenetik, CRISPR, Kimyasal Tarama

Epigenetic mechanisms of therapy resistance in cancers

Mechanisms of therapy resistance in cancers involve transcriptional dysregulation of cell death and survival-related genes. Changes in the epigenome are stably inherited through cell divisions and are thought to play a role in acquired therapy resistance. Epigenetic modifications occur on chromatin and consist mainly of DNA methylation, histone acetylation and methylation. These modifications regulate gene expression by influencing the packaging of chromatin and accessibility of transcription machinery to specific genes. A number of protein complexes write, read and erase chromatin modifications. These complexes can be broadly categorized as DNA methyl-transferases (DNMTs), histone acetyl-transferases (HATs), histone deacetylases (HDACs), histone methyl-transferases (HMTs) and histone demethylases (HDMs).

In order to decipher the relationship between epigenetic regulation of gene expression and therapy response, we undertake loss-of-function approach and interrogate the roles of chromatin modifying proteins with functional screens. These screens are based on genetic or chemical ablation of protein functions. In the first one, we use shRNA- or CRISPR/Cas9-based libraries; in the second one we use chemical probes in order to discover novel molecular mechanisms to overcome therapy resistance. We utilize next generation sequencing to profile and map the differences between drug-sensitive and drug-resistant populations of tumor cells. In this talk, we will talk about our current approaches and highlight the roles of our recently identified molecular mechanisms.

Keywords: Cancer, Glioblastoma, Therapy resistance, Epigenetics, CRISPR, Chemical screens



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

ULUSLARARASI KATILIMLI



Utkan Demirci

Stanford University School of Medicine, USA

Utkan Demirci, PhD, is a professor with tenure at Stanford University School of Medicine at the Canary Center at Stanford for Cancer Early Detection. Before moving to Stanford, he was an associate professor of Medicine and Health Sciences and Technology at Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School (HMS) and Harvard-Massachusetts Institute of Technology (MIT) Health Sciences and Technology. His group is focused on the development of point-of-care technologies and creating microfluidic platforms for sorting rare cells and exosomes for infectious diseases and cancer. His early work founded the basics of 3-D bioprinting of cells and biomaterials.

Microfluidic sorting of sperm for applications in assisted reproductive technologies

Micro- and nano-scale technologies can have a significant impact on medicine and biology in the areas of cell manipulation, diagnostics and monitoring. At the convergence of these new technologies and biology, we research for enabling solutions to real-world problems at the clinic. Emerging nano-scale and microfluidic technologies integrated with biology offer innovative possibilities for creating intelligent, mobile medical lab-chip devices that could transform diagnostics and monitoring, tissue engineering and regenerative medicine. Male infertility is a reproductive disease, and existing clinical solutions for this condition often involve long and cumbersome sperm sorting methods, including preprocessing and centrifugation-based steps. These methods also fall short when sorting for sperm free of reactive oxygen species, DNA damage, and epigenetic aberrations. Existing platforms suffer from structural complexities, i.e., pumps or chemoattractants, setting insurmountable barriers to clinical adoption. Inspired by the natural filter-like capabilities of the female reproductive tract for sperm selection, a model-driven design—featuring pillar arrays that efficiently and noninvasively isolate highly-motile and morphologically normal sperm, with lower epigenetic global methylation, from raw semen—is presented. The microfluidic sperm sorters that we created, such as the Simple Periodic ARray for Trapping And isolationN (SPARTAN), modulate the directional persistence of sperm, increasing the spatial separation between progressive and non-progressive motile sperm populations. They lead to results within an unprecedentedly short 10-minute assay time. With over 99% motility of sorted sperm, a 5-fold improvement in morphology, 3-fold increase in nuclear maturity, and 2–4-fold enhancement in DNA integrity, SPARTAN offers to standardize sperm selection while eliminating operator-to-operator variations, centrifugation, and flow. Some of these innovative microfluidic devices have been translated into FDA approved and CE-marked products, where they have been widely used by fertility clinics around the world to serve patients, leading to an estimated 10,000+ live births globally.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİLER



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

KANSER



SS – 23 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Meme Kanser Hücrelerinde İyon Kanal Blokörlerinin Etkisi

Ahu Soyocak¹, Didem Turgut Coşan²

¹*İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

²*Eskişehir Osmangazi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

Amaç: İyon kanallarının hücre aktivitesine olan etkilerinin araştırılmasında ve kanalların yapı ve lokalizasyonunun belirlenmesinde çeşitli doğal toksinler kullanılmaktadır. Kanseri tiplerinin ve iyon kanal ailelerinin geniş olması nedeniyle, kanal blokörlerinin etkilerini belirleme üzerine yapılan çalışmalar devam etmektedir. Ancak genel kanal blokörlerinin çeşitli kanserlerdeki etkisi uygulanan konsantrasyonlara ve uygulama zamanına göre farklılık gösterebilmektedir. Ayrıca hücrelerin invaziv karakterde olup-olmamları da kanal blokörlerinin etkileri açısından farklılık gösterebilir. Araştırmamızda potasyum kanal blokörü olan doğal toksinlerden tetraetilamonyum (TEA) ve 4-aminopiridin (4-AP)'in zayıf invaziv MCF-7 ve güçlü invaziv MDA-MB-231 hücrelerine olan etkisinin karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Hücrelere 24 ve 48 saat süreyle, TEA (1mM, 5mM ve 10mM) ve 4-AP (1mM, 2mM ve 5mM)'nin çeşitli konsantrasyonları uygulandı. Hücre canlılığı ve proliferasyonu, tripan blue ve XTT yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: 4-AP uygulanan MCF-7 hücrelerinin 24. saatte artan doza (2mM** ve 5mM***) bağlı olarak proliferasyonun azaldığı belirlendi. Ayrıca 48. saatte de artan doza bağlı olarak proliferasyonun azaldığı, 5mM'lik dozda (**) görülen azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. MDA-MB-231 hücrelerinin proliferasyonunda 4-AP uygulanan gruplarda 24. saatte azalış görülmekle birlikte, bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. 48. saatte proliferasyonun artan doza bağlı olarak giderek azaldığı (2mM*** ve 5mM ***) gözlemlendi. MCF-7 hücrelerinde % canlılık oranında 48. saat 4-AP 2mM(***) ve 48. saat 5mM (**) konsantrasyonlarındaki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. MDA-MB-231 hücrelerinde ise 4-AP uygulanan tüm gruplarda doza bağlı azalış görülmüş olup, 5mM(***) konsantrasyondaki azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. Bunun yanında her iki hücre tipinde de TEA uygulamalarının hem canlılık hem de proliferasyonu azaltmak açısından, ne konsantrasyon ne de zamana bağlı olan bir etki göstermediği tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak, genel potasyum kanal blokörü 4-AP'nin hücrelerin canlılığı ve proliferasyonuna olan etkisi göz önüne alındığında meme kanser hücreleri üzerinde etkili olduğu, güçlü invaziv meme kanser hücrelerinde uygulanan en yüksek doz ve saatte etkili olduğu kanaatine ulaşılmıştır.

Effect of Ion Channel Blockers in Breast Cancer Cells

Ahu Soyocak¹, Didem Turgut Coşan²

¹*İstanbul Aydın University Medical Faculty Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul*

²*Eskişehir Osmangazi University Medical Faculty Department of Medical Biology, Eskişehir*

Objective: Several natural toxins are used to investigate the effects of ion channels on cell activity and to determine the structure and localization of the channels. The wide range of cancer types and ion channel family members allows the continuation of researches on the determination of the effects of channel blockers. However, the effect of general channel blockers on various cancers differs depend on concentration and the time. In addition, the effects of channel blockers can be change according to invasive or non- invasive cells. In this study, we aimed to compare the effects of tetraethylammonium(TEA) and 4-aminopyridine(4-AP), which are potassium channel blocker and natural toxin, on weakly invasive MCF-7 and strong invasive MDA-MB-231 cells.

Materials-Methods: Various concentrations of TEA(1mM, 5mM and 10mM) and 4-AP(1mM, 2mM and 5mM) were applied to the cells for 24 and 48 hours. Cell viability and proliferation were determined by trypan blue and XTT method.

Results: It was determined that proliferation decreased with increasing dose(2mM** and 5mM***) at 24 hours of MCF-7 cells treated with 4-AP. Proliferation decreased at 48th hour depend on increasing concentrations and 5mM(**) was found to be statistically significant. Although proliferation of MDA-MB-231 cells treated with 4-AP decreased at 24 h, this decrease was not statistically significant. Proliferation at 48 h, was observed to gradually decrease(2mM*** and 5mM***) depending on the concentration. The percentage of viability in MCF-7 cells was significantly lower in 48-hour 4-AP 2mM(***) and 48-hour 5mM(**) concentrations. In MDA-MB-231 cells, dose-dependent decrease was observed in all groups treated with 4-AP and the decrease in 5mM(***) concentration was statistically significant. TEA applications in both cell types did not show any effect on both viability and proliferation, either concentration or time.

Conclusion: It was found that general potassium channel blocker 4-AP has an effect on the viability and proliferation of cells on strong invasive breast cancer cells.



SS – 24 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Meme Kanseri Hücrelerinde Susturulan İyon Kanallarının PIK3ca Gen Ekspresyonuna Etkisi

Ahu Soyocak¹, Didem Turgut Coşan²

¹Istanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

²Eskişehir Osmangazi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

Amaç: İyon kanalları kanser hücrelerinde proliferasyon, hücre siklusu, apoptoz ve migrasyonda anahtar bir rol oynamaktadır. Potasyum kanallarının aktivitesinin meme tümör hücrelerinde normal dokuya göre arttığı, bu nedenle onkogenik fonksiyon göstererek kanserleşmeye ve hücre proliferasyonu artışına neden olabileceği bilinmektedir. Fosfatidilinositol-3-kinazlar (PI3K), hücre çoğalması, ölümü, hareketi ve invazyonu gibi süreçlerde rol oynamaktadır. Bu sinyal iletiminin bozulması karsinogenez sürecini başlatabilir. PIK3CA, fosfatidil inositol kinazın katalitik alfa alt birimi kanser oluşum sürecinde önemli bir yere sahiptir. Araştırmamızda MDA-MB-231 hücrelerinde Kv1.3 ve Kv10.1 potasyum kanallarının siRNA ile susturulmasının PIK3CA gen ekspresyonuna olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: MDA-MB-231 hücrelerinde Kv1.3 (KCNA3) ve Kv10.1 (KCNH1) kanallarına özgü gen susturma işlemi için spesifik hücrelere siRNA transfekte edildi. Transfeksiyon sonrası hücrelerden izole edilen RNA'lerden cDNA sentezi gerçekleştirildi. PIK3CA (Hs00907957_m1; Applied Biosystems) gen ekspresyonu uygun primer prob seti ile Real Time PCR (qRT-PCR) (Stratagene, Mx3000p) cihazında belirlendi. Gen ekspresyon seviyesi 2

Gen ekspresyon seviyeleri, Ct değerleri kullanılarak $2^{-\Delta Ct} = 2^{-(Ct_{gen} - Ct_{housekeeping\ gen})}$ formülüne göre hesaplandı.

Bulgular: Kv1.3 ve Kv10.1'i susturulan MDA-MB-231 hücrelerinde PIK3CA gen ekspresyonlarının kontrole göre sırasıyla 1,38 ve 2,55 kat azaldığı (fold change) (p=0,001) belirlendi.

Sonuç: Çalışmamız, Kv1.3 ve Kv10.1 potasyum kanallarının, meme kanserinin önlenmesi ve moleküler ve hedefe yönelik tedavide önemli bir yere sahip olabileceğini ortaya koymaktadır.

The Effect of Silenced Ion Channels on PIK3CA Gene Expression in Breast Cancer Cells

Ahu Soyocak¹, Didem Turgut Coşan²

¹Istanbul Aydın University Medical Faculty Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul

²Eskişehir Osmangazi University Medical Faculty Department of Medical Biology, Eskişehir

Objective: Ion channels play a key role in cancer cell proliferation, cell cycle, apoptosis and migration. It is known that potassium channels activity increases in breast tumor cells when compared to normal tissue and may cause oncogenic function and lead carcinogenesis and increase cell proliferation. Phosphatidylinositol-3-kinases (PI3K) play a role in processes such as cell proliferation, cell death, cell movement and cell invasion. Alteration of this signal transduction may initiate the carcinogenesis process. PIK3CA, phosphatidyl inositol kinase 3 catalytic subunit alpha, has an important role in the cancer formation process. The aim of this study was to determine the effect of silencing of Kv1.3 and Kv10.1 potassium channels with siRNA on PIK3CA gene expression in MDA-MB-231 cells.

Materials-Methods: siRNA of Kv1.3 (KCNA3) and Kv10.1 (KCNH1) channels were transfected in MDA-MB-231 cells for gene silencing. After transfection, cDNA synthesis was performed from RNAs isolated. PIK3CA (Hs00907957_m1; Applied Biosystems) gene expression was determined on the Real Time PCR (qRT-PCR) (Stratagene, Mx3000p) with the appropriate primer probe set. Gene expression levels were calculated according to $2^{-\Delta Ct} = 2^{-(Ct_{gen} - Ct_{housekeeping\ gen})}$ formula by using Ct values.

Results: PIK3CA gene expressions decreased by 1.38 and 2.55 fold (p = 0.001), respectively, in MDA-MB-231 cells silenced with Kv1.3 and Kv10.1.

Conclusion: Our study reveals that Kv1.3 and Kv10.1 potassium channels may have an important role in the prevention and molecular and targeted treatment of breast cancer.



SS – 25 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Meme kanseri tedavisine yeni yaklaşım: HER2 karşıtı monoklonal antikor geliştirilmesi

Aybike Erdoğan^{1,2}, Mehmet Öztürk¹

¹*İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye*

²*Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye*

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), hücre zarında bulunan tirozin kinaz reseptörüdür. Meme kanserinin HER2 pozitif alt tipinde fazlaca ifade edilmesi sebebiyle bu proteine karşı antikor geliştirilmesi biyofarmasötik alanında oldukça talep görmektedir. Onaylanmış HER2 karşıtı antikor tedavilerinde klinik etkinliğin az olması, direnç kazanımı, ileri derece kalp fonksiyon bozukluklarının gözlenmesi gibi olumsuzluklarının olması alternatif antikor yaklaşımlarını düşündürmektedir. Bu sebeple, grubumuz tarafından daha önceden HER2'yi aktif olarak tanıyan ve meme kanseri hücre hatlarında büyüme karşıtı etki gösteren hibridoma teknolojisi ile yeni fare antikorları geliştirilmiştir. Antikorların, HER2'ye meme kanseri tedavisinde kullanılan onaylanmış monoklonal antikorlardan farklı bölgelerden bağlandığı bilinmektedir. Bu çalışmamızda, öncelikle fare antikorlarının hedefi tanımda esas rolü oynayan tamamlayıcılık belirleme bölgelerini (CDR) saptamayı ve sonrasında fare-insan kimerik antikor geliştirerek saptanan bölgelerin hedefi tanıdıklarını doğrulamayı ve son olarak üretilen antikorların etkinliklerini in vitro test etmeyi hedefledik. Bunun için öncelikle hibridoma hücrelerinden ifade edilen mRNA'ların, IgG1 ağır ve kappa hafif zincir değişken bölgeleri çoğaltılıp dizileri çıkartıldı. Bu bölgeler üzerinde en çok değişkenlik gösteren, CDR dizileri Kabat sınıflandırılmasına göre belirlendi. Ardından değişken bölgede fare, sabit bölgede ise insan IgG1 yapısı içerecek şekilde kimerik antikorlar tasarlandı. Tasarlanan vektörler CHO-DG-44 hücrelerinde ektopik olarak ifade ettirildi. Üretilen kimerik antikorların immünfloresan ve akış sitometrisi yöntemleri ile hedefi tanıdığı doğrulandı. Sonrasında protein A kromatografisi ile saflaştırılacak kimerik antikorların HER2+ meme kanseri hücre hattında etkinliklerini göstermeyi planlamaktayız. Mevcut çalışmalarımız sonucunda HER2'ye karşı geliştirdiğimiz monoklonal antikorların, piyasada var olan meme kanseri ilaçlarına bir alternatif olarak tedavideki boşluğu doldurabilecek veya ikili daha etkin bir tedavi imkanı sunabilecek adaylar olduğunu önermekteyiz.

New approach to breast cancer treatment: development of anti-HER2 monoclonal antibody

Aybike Erdoğan^{1,2}, Mehmet Öztürk¹

¹*Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir, Turkey*

²*Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye*

The human epidermal growth factor receptor (HER2) is a tyrosine kinase receptor present in the cell membrane. Due to its overexpression in the HER2 positive subtype of breast cancer, the development of antibodies against this protein is highly demanded in the field of biopharmaceuticals. The lack of clinical efficacy, resistance gain, and the presence of severe cardiac dysfunction in approved anti-HER2 antibodies suggest an alternative antibody approach. For this reason, our group has already developed mouse antibodies by hybridoma technology, which actively recognize HER2 and perform anti-growth effect in breast cancer cell lines. These antibodies bind HER2 from different regions than approved antibodies used in the breast cancer treatment. In this study, we aimed to detect complementarity determining regions (CDR), which primarily play a key role in recognizing the target of mouse antibodies, and then to confirm the recognition of target regions by developing mouse-human chimeric antibody, and finally to test the in vitro activity of the antibodies. For this, firstly, IgG1 heavy and kappa light chain variable regions of mRNAs expressed from hybridoma cells were amplified and sequenced. The most variable CDR sequences on these regions were determined according to Kabat classification. The chimeric antibodies containing mouse variable region and the human IgG1 structure in the constant region were designed and transfected to CHO-DG-44 cells. The produced chimeric antibodies were confirmed by immunofluorescence and flow cytometry. We further plan to demonstrate the efficacy of the purified chimeric antibodies by protein A chromatography in the HER2 + breast cancer cell line. As a result, in this study we propose a newly developed monoclonal anti-HER2 antibodies which could fill the gap in the treatment of breast cancer as an alternative or more effective dual therapy.



SS – 26 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Borik asit, Kalsiyum fruktorbat ve Disodyum pentaborat dekahidrat'ın Karaciğer kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe etmesi apoptozu aktive etmesi ile mi gerçekleşir?

Ayla Solmaz Avcıkurt¹, Mehmet Korkmaz²

¹Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, Balıkesir

²Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, Manisa

Bor, insan sağlığı için metabolizma açısından hayati önemi olan bir elementtir. Bor; kemik gelişimi ve rejenerasyonu, yara iyileşmesi, cinsiyet steroidleri sentezinde rol oynar aynı zamanda borun antioksidan ve antienflamatuar etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bor sindirim ve solunum sistemi tarafından %100 oranında emilir. Kan ve dokulardaki bor seviyesi böbrek tarafından düzenlenir. Bor türevlerinin antikanserijenik özelliği olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada Karaciğer kanseri hücre hattı Hep3B'ler üzerinde üç farklı bor bileşiğinin hücre canlılığı, gen ekspresyonu ve hücre göçü üzerine etkileri araştırıldı. Borik asit, Kalsiyum Fruktoforat ve Disodyum pentaborat dekahidrat (DPD) bileşiklerinin karaciğer kanser hücre hattı Hep3B'lerde yarı maksimal inhibitör konsantrasyonun (IC50) dozu 24. saatte sırasıyla 8,53 mM, 478µM ve 5,99 mM olarak tespit edildi. Bcl-2, Bcl-XL, BAX ve BAD gen ifadesi Gerçek Zamanlı PZR ile gerçekleştirildi. Antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-XL gen ifadesi üç bor bileşiği ile azaldı. Proapoptotik BAX ve BAD ifadesi DPD ile 10 katı artış gösterdi, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (p:0,034). Hücre göçü üzerine Bor bileşiklerinin etkisi Yaralanma Deneyi ile gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan bor bileşiklerinin Karaciğer kanseri hücrelerinde hücre göçünü azalttığı gözlemlendi. Sonuç olarak Borik asit, Kalsiyum Fruktoforat ve Disodyum pentaborat dekahidrat (DPD) Hep3B hücrelerin doza bağlı olarak hücre canlılığını azalttı. DPD proapoptotik BAX ve BAD genlerinin ekspresyonunu arttırdı. Kullandığımız bor bileşikleri hücre göçünü engelledi. Günümüzde kanser tedavisi cerrahi ve kemoterapi ile gerçekleştirilmektedir. Bor bileşiklerinin çeşitli kanser türlerinde tedaviye yardımcı olabileceğine dair literatürde çalışmalara rastlanmaktadır. Bu çalışmada ilk kez üç farklı bor bileşiğinin karaciğer kanseri üzerine etkisi incelendi. Çalışma invivo deneyler ile genişletilebilir.

Does boric acid, calcium fructoborate and disodium pentaborate decahydrate inhibit the growth of liver cancer cells by activating apoptosis?

Ayla Solmaz Avcıkurt¹, Mehmet Korkmaz²

¹Balıkesir University Faculty of Medicine, Medical Biology, Balıkesir

²Manisa Celal Bayar University Faculty of Medicine, Medical Biology, Manisa

Boron is a vital element of metabolism for human health. Boron plays a role in the synthesis of sex steroids, bone development and regeneration, wound healing and is known to have antioxidant and anti-inflammatory effects. Boron is absorbed 100% by the digestive and respiratory system. The level of boron in the blood and tissues is regulated by the kidney. Anticarcinogenic properties of boron derivatives have been shown in some studies. In this study, we investigated the effects of three different boron compounds on cell viability, gene expression and cell migration on liver cancer cell line Hep3B. The dose of maximal inhibitor concentration (IC50) in the liver cancer cell line Hep3B of boric acid, calcium fructoborate and disodium pentaborate decahydrate (DPD) compounds was 8.53 mM, 0.478 mM and 5.99 mM, respectively, at 24 hours. Bcl-2, Bcl-XL, BAX and BAD gene expression were performed by Real Time PCR. Antiapoptotic Bcl-2 and Bcl-XL gene expression decreased with three boron compounds. Proapoptotic BAX and BAD expression increased 10-fold with DPD, which was statistically significant. (P = 0.034). The effect of boron compounds on cell migration was carried out by the Wound Healing test. It was observed that the boron compounds used in the study reduced cell migration in liver cancer cells. As a result, Boric acid, Calcium Fructoborate and DPD decreased the cell viability of Hep3B cells depending on the dose. DPD increased expression of the proapoptotic BAX and BAD genes. The boron compounds we used prevented cell migration. Today, cancer treatment is carried out by surgery and chemotherapy. There are studies in the literature that assert compounds can help to treat various types of cancer. In this study, the effect of three different boron compounds on liver cancer was examined for the first time. The work can be expanded with invivo experiments.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 27 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

4-OH-Coumarinin HePG2 Hücrelerinin Genetik Özelliklerine Etkisinin Araştırılması

Çağrı Öner¹, Ecem Sabiha Uçar², Ertuğrul Çolak³

¹Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi biyoloji ve Genetik ABD., İstanbul/TÜRKİYE

²Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Düzce/TÜRKİYE

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ABD., Eskişehir/TÜRKİYE

Amaç: 4-OH-Coumarin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan, tarçın, vanilya gibi bitkilerden elde edilen aromatik bileşendir. Çalışmamızda, 4-OH-Coumarinin HePG2 hepatoselüler karsinom hücrelerinin proliferasyon ve adezyonunda etkili genler ile kısa kodlamayan RNA ailesinin yeni bir üyesi olan PIWI interacting RNA ekspresyonundaki değişimi belirlemek amaçlanmaktadır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda, daha önceden belirlediğimiz 4-OH-Coumarinin letal dozu (48.sa, 5 µM) uygulanan HePG2 hücrelerinden total RNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen RNA'lerden proliferasyondaki değişim için Ki-67; adezyondaki değişim için matriksmetalloproteinaz-2 ve -9 (MMP-2 ve MMP-9); piRNA ekspresyonundaki değişimi gözlemlemek için ise piR-823 ekspresyonu Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) kullanılarak belirlendi.

Bulgular: Elde edilen verilere göre, Ki-67 ekspresyonu kontrol grubuna göre 4-OH-Coumarin uygulanan grupta azalmıştır (p<0.001). 4-OH-Coumarin uygulanan HePG2 hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonları kontrol grubuna göre artmıştır (p<0.001). Ayrıca, piR-823 ekspresyonu kontrol grubuna göre, 4-OH-Coumarin grubunda artmaya neden olduğu gözlenmiştir (p<0.001).

Sonuç: Ki-67 gen ekspresyonundaki azalma 4-OH Coumarinin HePG2 hücrelerinde proliferasyonun azaldığını göstermektedir. MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonlarındaki artış, normalde HepG2 hücrelerinde kuvvetli olan adezyon karakterinin değişmesine neden olmaktadır. Ayrıca, HePG2 hücrelerinde piR-823 ekspresyonunda artışın temel nedeni 4-OH Coumarinin hücre karakterlerinde yarattığı değişimdir. Daha önce yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre, hücre hareket deneyleri ile korele olan gen ekspresyonları 4-OH-Coumarin'in hepatoselüler karsinomun tedavisinde yararlı bir aromatik bileşen olabileceği fikrini desteklemektedir.

Investigation of 4-OH-Coumarin to the Genetic Characteristics of HePG2 Cells

Çağrı Öner¹, Ecem Sabiha Uçar², Ertuğrul Çolak³

¹Maltepe University, Medical Faculty, Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul/TURKEY

²Düzce University, Medical Faculty, Düzce/TURKEY

³Eskişehir Osmangazi University, Medical Faculty, Department of Biostatistics, Eskişehir/TURKEY

Objective: 4-OH-Coumarin is an aromatic substance, is extracted from vanilla, cinnamon etc., and used for treatment of various diseases. In our study, we aimed to determine gene expression differences of proliferation, adhesion characteristics and a novel class of small non-coding RNA which is called PIWI interacting RNA when HePG2 cells are treated with 4-OH-Coumarin.

Materials-Methods: In our study, total RNA was isolated from lethal dose of 4-OH-Coumarin (48.sa, 5 µM) treated HePG2 cells which is determined in our previous study. To observe gene expression changes in proliferation Ki-67; in adhesion matrixmetalloproteinase-2 and -9 (MMP-2 and MMP-9); in piRNA expression piR-823 expression was determined by Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

Results: According to obtained data, Ki-67 gene expression of 4-OH-Coumarin treated group decreased compared to control group statistically (p<0.001). The statistically significant upregulation of MMP-2 and MMP-9 gene expression was determined in 4-OH-Coumarin treated group compared to control group (p<0.001). Furthermore, piR-823 expression increased statistically significant in 4-OH-Coumarin treated group compared to control group (p<0.001).

Conclusion: Decrease of Ki-67 gene expression indicates that proliferation of HePG2 cells is decreased by 4-OH-Coumarin. Upregulation of MMP-2and MMP-9 genes show the decrease of adhesion characteristics of HePG2 cells which is potent normally. Furthermore, the main reason of upregulation of piR-823 expression in HePG2 cells is the effect of 4-OH-Coumarin to cellular characteristics. Gene expressions which is mostly correlated with cellular behavior experiments, according to our previous study, support the idea that 4-OH-Coumarin may be a useful aromatic component in treatment of hepatocellular carcinoma.



SS – 28 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Pseudomonas ekzotoksin füzyonu ile kanser hücrelerine özgü IL13Rα2 reseptörünün terapötik olarak hedeflemesi

Damla Uludağ¹, Nihal Karakaş²

¹*Istanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi, Kavacık-Beykoz/İSTANBUL*

²*Istanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Departmanı, Kavacık-Beykoz/İSTANBUL*

Kanser araştırmalarında rekombinant toksin füzyonlarını içeren hedefe yönelik terapötikler, kötü huylu tümörlere karşı önemli terapötik adaylardır. Rekombinant toksin füzyonları, kanser hücre reseptörlerini hedef alan bağlanma bölgesi ve buna entegre edilmiş hücre ölümünü gerçekleştirebilen fonksiyonel toksin bölgesinden oluşmaktadır. Pseudomonas ekzotoksin (PE), P.aeruginosa bakterisinde ifade edilen bir proteindir. Rekombinant DNA teknolojilerinden yararlanılarak PE'nin antikör fragmanları veya sitokinler ile birleştirilip kanser hücrelerine özgü olarak yüksek bir afinite ile bağlanması sağlanmaktadır.

Bu doğrultuda çalışmamızda; kanser hücrelerinde eksprese edilen IL13Rα2 reseptörüne özgü IL13-PE toksin füzyonu oluşturulmuştur. Görüntülenebilir tümör çalışmaları, hedefe yönelik tedavilerin etkinliğini en hassas şekilde ortaya koyduğu için, yeşil floresan proteini ile biyoluminesan görüntüleme ajanlarından F.lusiferazı birlikte içeren lentiviral vektörler kullanılarak, bu ajanları eksprese eden kanser hücre hatları elde edilmiştir. Terapötik hedefleme için, IL13Rα2 reseptörünün kanser hücrelerindeki ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. IL13-PE rekombinant toksin füzyonu ile IL13Rα2'nin hedeflenmesi sonucunda hücre canlılığının in vitro analizi, bu hücrelerde canlılığın tespit edilmesini sağlayan luminesan sinyal ölçümü için Fluc'a özgü D-luciferin kullanılarak gerçekleştirilmiştir. IL13Rα2 eksprese eden hücrelerde canlılığın önemli derecede azaldığını gösteren şekil 1'deki hücre canlılık analizleri doğrultusunda, IL13PE'nin çeşitli kanserlere karşı potansiyel terapötik kullanımını göstermektedir. Bu proje, TUBİTAK 117S421 nolu 1001 preojesi ile desteklenmektedir.

Targeting IL13Rα2 on cancer cells by therapeutic Pseudomonas exotoxin fusions

Damla Uludağ¹, Nihal Karakaş²

¹*Istanbul Medipol University, Regenerative and Restorative Medicine Research Center (REMER), Kavacık-Beykoz/İSTANBUL*

²*Istanbul Medipol University, School of Medicine, Department of Medical Biology, Kavacık-Beykoz/İSTANBUL*

Targeted therapeutics involving recombinant toxin fusions in cancer research are important therapeutic candidates against malignant tumors. Recombinant toxin fusions consist of a binding site targeting cancer cell receptors and a functional toxin partner causing cell death. Pseudomonas exotoxin (PE) is a protein expressed in P.aeruginosa bacteria. Using recombinant DNA technologies, PE is combined with antibody fragments or cytokines in order to bind to the cancer cell surface with a high affinity.

In this context; IL13PE toxin fusion specific to the IL13Rα2 receptor expressed in cancer cells was established. Since imaging studies demonstrated the effectiveness of targeted therapies in a sensitive manner, cancer cell lines expressing these agents were obtained using lentiviral vectors containing green fluorescent protein and bioluminescent imaging agents (Firefly luciferase). For therapeutic targeting, expression levels of IL13Rα2 receptor in cancer cells were determined. In vitro analysis of cell viability was performed using D-luciferin for luminescent signal measurement. According to viability assays, IL13PE treatment in IL13Rα2 expressing cancer cells significantly decreased viability and the data shown in Figure 1. This study shows potential therapeutic use of IL13PE against several cancers.

This project is supported by project 1001, TUBİTAK 117S421.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 29 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Inula viscosa bitkisinin metanol özütünün malign melanom hücre hattındaki antitümöral ve sitotoksik etkisinin araştırılması

Dilara Kamer Çolak¹, Ünal Egeli¹, Işıl Ezgi Eryılmaz¹, Önder Aybastier², Hulusi Malyer³, Gülşah Çeçener¹, Berrin Tunca¹

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Bursa

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya AD, Bursa

³Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Botanik AD, Bursa

Malign melanom (MM) tedavisinde mevcut terapötik yaklaşımların çoğu *MAPK* yolağındaki etkin kinazların inhibisyonunu hedefler ancak hastalarda tedavi sonrası ilaçlara karşı direnç oluşmaktadır. Bu nedenle literatürde adjuvan olarak geliştirilebilecek yeni bitkisel çözümlerin araştırıldığı çalışmalar yer almakta olup *Inula viscosa*'nın (IV) metanol özütünün (IVM) MM hücre hatları üzerine antiproliferatif ve sitotoksik etkisi ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiştir. Mevcut çalışma kapsamında IV yapraklarından elde edilen IVM'nin MeWo MM ve normal fibroblast hücreleri üzerindeki olası sitotoksik ve antiproliferatif etkilerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Özütün kromatografik analizi ve antioksidan aktivitesi değerlendirildikten sonra 24, 48 ve 72 saatte 80 100 120 µg/ml artan dozlarda IVM'nin MeWo ve fibroblast hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkileri WST-1 analizi ile belirlenmiştir. IVM'nin apoptotik ve hücre döngüsü üzerindeki etkileri akış sitometrik analizler ile değerlendirilmiştir. Hücrelerdeki morfolojik değişimler akridin oranj-etidyum bromür (AO/EB) floresan boyaması ile görüntülenmiştir. Son olarak IVM'nin metastatik yetenek üzerine etkisi yara iyileşmesi testi ile değerlendirilmiştir. WST-1 analizine göre IVM'nin 24 saatte doza ve zamana bağlı anlamlı sitotoksik etkisi saptanmıştır. 100 µg/ml uygulanması sonucu ölüm oranlarının MeWo'da %52,24 ve normal fibroblast hücre hattında ise aynı dozda %37,49 olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). IVM'nin (80,100,120 µg/ml) dozlarının MeWo'da sırasıyla %13,05;%34,13;%41,33; fibroblastta ise %7,16;%12,57;%9,54 oranlarında apoptotik ölümü indüklediği tespit edilmiş olup bulgular AO/EB boyaması ile desteklenmiştir ($p<0,01$). Hücre döngüsü analizine göre kontrol grubu (%26,9) ile doz grupları karşılaştırıldığında artan doza bağlı olarak MeWo'da hücre döngüsünün G2/M'de (%36,3;%38,5;%41,4) tutulduğu belirlenmiş olup fibroblastta ise kontrol grubuna göre (%78,7) doz grupları arasında (81,8;%74,6;%80,3) hücre döngüsünün G0/G1 fazında anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,01$). Son olarak IVM dozlarının 24 saat boyunca uygulanması sonucu MeWo hücrelerinin metastatik göç yeteneğini baskıladığı tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre IVM'nin MeWo hücre hattındaki antiproliferatif ve sitotoksik etkisi saptanmış olup içerisinde çözünen fenolik

bileşenlerin potansiyel etkileri sebebi ile terapötik bir ajan adayı olabileceği öngörülmektedir.

Investigation of antitumoral and cytotoxic effects of methanol extract of *inula viscosa* on malignant melanoma cell line

Dilara Kamer Çolak¹, Ünal Egeli¹, Işıl Ezgi Eryılmaz¹, Önder Aybastier², Hulusi Malyer³, Gülşah Çeçener¹, Berrin Tunca¹

¹Uludag University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Bursa, Turkey

²Uludag University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Bursa, Turkey

³Uludag University, Faculty of Science, Department of Botany, Bursa, Turkey

There are therapeutic approaches of malignant melanoma (MM) but patients develop resistance to post-treatment. There are studies investigating herbal solutions but antiproliferative and cytotoxic effects of methanol extract obtained from *Inula viscosa* (IV) leaves (IVM) on MM cell line were evaluated for the first time. Purpose of the present study was to evaluate the possible cytotoxic and antiproliferative effects of IVM on MeWo MM and normal fibroblast cells. After the chromatographic analysis and antioxidant activity of the extract, antiproliferative effects of IVM on cells were determined by WST-1 analysis at increasing doses of 80 100 120 µg/ml for 24-72h. The effects of IVM on apoptotic and cell cycle were evaluated by flow cytometric analysis. Morphological changes in cells were scanned by AO/EB fluorescence staining. Finally, the effect of IVM on metastatic ability was evaluated by wound healing assay. According to WST-1 analysis, 100 µg/ml IVM for 24h caused %52,24 cell death in MeWo and %37,49 in fibroblast ($p<0.01$). The doses of IVM were found to induce apoptotic death in MeWo and fibroblast cells by the rates of %13,05;%34,13;%41,33 and %7,16;%12,57;%9,54 respectively. The findings were supported by AO/EB staining ($p<0.01$). According to the cell cycle analysis, when the control group (%26,9) and the dose groups (%36,3;%38,5;%41,4) were compared, cells were arrested in G2/M in MeWo and when the control group (%78,7) compared to dose groups (81,8;%74,6;%80,3) the cells were arrested cell cycle G0/G1 phase in fibroblast ($p<0,01$). Finally, IVM doses were found to suppress the ability of metastatic migration of MeWo cells in 24h. According to the findings, the antiproliferative and cytotoxic effects of IVM in the MeWo have been determined and it is predicted that it may be a candidate for therapeutic agent due to the potential effects of dissolved phenolic compounds.



SS – 30 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Kolon kanserinde resveratrol ve ekzosomal miRNA arasındaki ilişki

Eda Becer¹, Hilal Kabadayı², Seda Vatansever³

¹Yakın Doğu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti; Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi (DESAM), Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti
²Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye
³Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye; Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi (DESAM), Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Amaç: Resveratrol, kolon kanserinin önlenmesinde potansiyel kemopreventif ajan olarak kabul edilen bir fitokimyasaldır. Eksozomlar ve ekzosomal miRNA'lar kanser hücrelerinin neoplastik büyümesini ve metastazını düzenleyebilmektedir. Bu çalışmanın amacı, resveratrolün primer (Colo-320) ve metastatik (Colo-741) kolon adenokarsinom hücre hatlarında sitotoksitesini araştırılmasının yanı sıra ekzomal miRNA seviyeleri ve CD9, CD63, Dicer, eIF2a ve eIF2c ekspresyonunun araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Colo-320 ve Colo-741 hücreleri farklı resveratrol konsantrasyonlarında 24 saat ve 48 saat boyunca inkübe edildi. Hücre büyümesi ve sitotoksitesite MTT analizleriyle belirlendi. Hücre hatlarında CD9, CD63, Dicer, eIF2a ve eIF2c dağılımı immünoperoksidaz tekniği kullanılarak analiz edildi. Eksozomal miRNA seviyeleri miRCURY™ Kit'i kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Resveratrol sırasıyla 10 uM ve 25 uM konsantrasyonlarda Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin büyümesini inhibe etmede daha etkili bulundu. İmmünohistokimyasal boyamanın bir sonucu olarak, Dicer ve eIF2a immünoreaktiviteilerinin Colo-741 hücrelerinde önemli ölçüde azalırken, Dicer ve eIF2c immüno boyanma yoğunluğunun Colo-320 hücrelerinde arttığı saptandı. Ayrıca, her iki hücre hattında resveratrol inkübasyonundan sonra eksozomal miRNA miktarı değişti.

Sonuç: Sonuçlarımız resveratrolün Colo-320 ve Colo-741 hücre hatları üzerinde zıt etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Resveratrol inkübasyonundan sonra Dicer ve eIF2a'nın azalması, primer ve metastatik kolon kanseri hücrelerinde farklılık gösterdi. Ayrıca resveratrolün metastatik kanser hücrelerinin (Colo-741) ilerleyici özelliklerini inhibe edebileceği öngörülmektedir.

Relationship between resveratrol and exosomal miRNA in colon cancer

Eda Becer¹, Hilal Kabadayı², Seda Vatansever³

¹Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Near East University, Nicosia, Turkish Republic of Northern Cyprus; Experimental Health Research Center of Health Sciences, Near East University, Nicosia, Turkish Republic of Northern Cyprus.

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Celal Bayar University, Manisa, Turkey; Experimental Health Research Center of Health Sciences, Near East University, Nicosia, Turkish Republic of Northern Cyprus.

Objective: Resveratrol is a phytochemical that regarded as potential chemopreventive agent in colon cancer prevention. Exosomes and exosomal miRNAs may regulate neoplastic growth and metastasis of cancer cells. The aim of the study was to investigate the cytotoxicity of resveratrol in primary (Colo-320) and metastatic (Colo-741) colon adenocarcinoma cell lines as well as examined exosomal miRNA levels and expression of CD9, CD63, Dicer, eIF2a and eIF2c.

Materials-Methods: Different concentrations of resveratrol were incubated for 24 h and 48 h on Colo-320 and Colo-741 cells. Cell growth and cytotoxicity were measured by MTT assays. The distribution of CD9, CD63, Dicer, eIF2a and eIF2c in cell lines were analyzed using indirect immunoperoxidase technique. The exosomal miRNA levels were evaluated by using miRCURY™ Kit.

Results: Resveratrol (10 µM and 25 µM concentration) were more effective at inhibiting Colo-320 and Colo-741 cell growth, respectively. As a result of immunohistochemical staining, Dicer and eIF2a immunoreactivities were significantly decreased in Colo-741 cells while Dicer and eIF2c immunostaining intensity was increased in Colo-320 cells. Also, the amount of exosomal miRNA was changed after resveratrol incubation in both cell lines.

Conclusion: Our results suggest that resveratrol had opposite effects on Colo-320 and Colo-741 cell lines. Decreasing of Dicer and eIF2a after resveratrol incubation differ in primary and metastatic colon cancer cells, it may support to inhibit progressive properties of metastatic cancer cells (such as Colo-741 cells).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 31 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

TAp73'ün hepatoselüler karsinomada tümör teşvik edici rolü

Evin İşcan^{1,2}, Gökhan Yıldız³, Özden Öz^{1,2,4}, Umut Ekin^{1,2}, Nikos Khoury⁵, Umur Keleş^{1,2}, Gökhan Karakülah^{1,2}, Aslı Suner⁶, Gülçin Çakan Akdoğan^{1,7}, Güneş Özhan^{1,2}, Vassilis Zoumpourlis⁵, Mehmet Öztürk¹

¹İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

²Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

⁴Dr. Faruk İlker Bergama Devlet Hastanesi, İzmir, Türkiye

⁵Biomedical Applications Unit, Institute of Chemical Biology, National Hellenic Research Foundation, Athens, Greece

⁶Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁷Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İzmir, Türkiye

p73, p53 ailesinin üyesidir. p73, transkripsiyonel olarak aktif (TA) ve dominant negatif (DN) izoformlarından oluşmaktadır. TAp73'ün p53 gibi davranırken, DNp73'ün ise TAp73'ün aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Ancak p53'ün aksine, birçok kanser tipinde TAp73'ün yüksek ifadesi söz konusu olup, mutasyonları gözlenmemektedir. TAp73'ün kanserdeki ifadesinin fonksiyonel önemi henüz tanımlanamamıştır. Bu çalışmada, en çok gözlenen kanserlerde p73 izoformlarının ifadesini ve hepatoselüler karsinomada (HSK) p73'ün rolünü incelemeyi amaçladık. Öncelikle, kanser genom atlası (TCGA) verilerini kullanarak en sık gözlenen kanserlerde, p73 izoformlarının seviyesini inceledik. HSK da dahil yaygın insan kanserlerinin çoğunda TAp73 ifadesinde artış gözlemlendi. Bununla birlikte, sadece skuamöz akciğer ve özofagus tümör dokularında DNp73 ifadesinde artış söz konusudur. Bu bulgular, TAp73'ün HSK hücrelerinde, tetrasiklin ile regüle edilen bir gen ifadesi sistemi kullanarak etkilerini kapsamlı bir şekilde incelememize neden oldu. Öncelikle mikroarray çalışması sonucunda gerçekleştirmiş olduğumuz gen seti analizi, TAp73'ün, global gen ekspresyonundaki derin değişiklikler yoluyla hücrelerde, stres, büyüme ve gelişim ile ilişkili yolları düzenlediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca kısa ve uzun süreli TAp73 aşırı ifadesine maruz kalan hücreler, zebra balığı, immün yetmez farelerde, 2 boyutlu ve 3 boyutlu hücre kültürleri de dahil olmak üzere farklı büyüme koşulları altında analiz edilmiştir. Bulgularımız TAp73'ün G1 fazında hücre birikimine yol açarak hücre çoğalmasını ve tümör oluşumunu azalttığını göstermektedir. İlginç bir şekilde TAp73 indüksiyonu hücre göçünü ve metastazı arttırmaktadır. Ayrıca, TAp73'ün YAP yolağını etkilediğini, projenitör ve kolangiosit benzeri hücre belirteçlerinin ifadesini değiştirdiğini de gösterdik. Verilerimiz, TAp73'ün, birçok insan kanserinde yüksek ifade edildiğini ve HSK'da ise pro-tümörjenik rol oynadığını ortaya koymaktadır.

The tumor promoting role of TAp73 in hepatocellular carcinoma

Evin İşcan^{1,2}, Gökhan Yıldız³, Özden Öz^{1,2,4}, Umut Ekin^{1,2}, Nikos Khoury⁵, Umur Keleş^{1,2}, Gökhan Karakülah^{1,2}, Aslı Suner⁶, Gülçin Çakan Akdoğan^{1,7}, Güneş Özhan^{1,2}, Vassilis Zoumpourlis⁵, Mehmet Öztürk¹

¹İzmir Biomedicine and Genome Center, İzmir, Turkey

²Dokuz Eylül University, İzmir International Biomedicine and Genome Institute, İzmir, Turkey

³Karadeniz Technical University, School of Medicine, Department of Medical Biology, Trabzon, Turkey

⁴Bergama Necle-Mithat Öztüre State Hospital, İzmir, Turkey

⁵Ege University, School of Medicine, Department of Biostatistics and Medical Informatics, İzmir, Turkey

⁶Biomedical Applications Unit, Institute of Chemical Biology, National Hellenic Research Foundation, Athens, Greece

⁷Dokuz Eylül University, School of Medicine, İzmir, Turkey

p73 is a member of the p53 family. p73 consists of transcriptionally active (TA) and dominant-negative (DN) isoforms. TAp73 behaves like p53, while DNp73 suppresses the activation of TAp73. However, unlike p53, high expression of unmutated TAp73 was observed in many types of cancer. The functional significance of TAp73 expression in cancer has not yet been determined. In this study, we aimed to examine the expression level of p73 in the most common human cancers and the role of p73 in hepatocellular carcinoma (HCC). Firstly, we examined the level of p73 isoforms in the most common cancer using the cancer genome atlas (TCGA) data. An increase in TAp73 expression was observed in most common human cancers, including HCC. These findings led us to investigate the effects of TAp73 in HCC. Following microarray study we performed the gene set analysis. These analyses showed that TAp73 regulates stress, growth, and development associated pathways. Furthermore, cells exposed to short and long-term TAp73 overexpression have been analyzed under different growth conditions, including monolayer and 3D organoid cultures as well as a xenograft in zebrafish and immunodeficient mice. Our findings show that TAp73 reduces cell proliferation and tumor formation by causing cell accumulation in G1 phase. Interestingly, induction of TAp73 increases cell migration and metastasis. We also demonstrated that TAp73 affects the YAP pathway and altered the expression of progenitor and cholangiocyte-like markers. Our data suggest that TAp73 is highly expressed in the most common human cancers and plays a pro-tumorigenic role in HCC.

Bu proje 117S246 ve 113S389 nolu Tübitak Projesi tarafından desteklenmektedir



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 32 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Trombospondin-2 geni yüksek ifadesinin kolorektal kanserde prognostik etkisi vardır

Nevin Belder¹, Edibe Ece Abacı¹, Hakiimu Kawalya¹,
Namood E Sahar², Berna Savaş³, Arzu Ensari³, Ayhan
Kuzu⁴, Hilal Özdağ¹

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

²Comsats Üniversitesi Bilgi Teknolojileri Enstitüsü, Islamabad

³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,
Ankara

⁴Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim
Dalı, Ankara

Tanı ve tedavi seçeneklerindeki gelişmelere rağmen; kolorektal kanser (KRK) dünya çapında kansere bağlı ölümlerin temel sebeplerinden biri olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, yeni prognostik biyobelirteçlerin ve kolorektal kanserde terapötik hedeflerin belirlenmesi hastalığın önlenmesi ve tedavisi için hayati öneme sahiptir. Bu bağlamda, hem KRK'nin altında yatan mekanizmayı netleştirmeyi hem de prognoz ile ilişkili potansiyel biyobelirteçler tanımlamayı hedefledik. Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda olası yeni KRK biyobelirteçlerini tanımlamak için mikroarray, meta-analiz ve biyoinformatiği birleştiren sistematik çok adımlı bir yaklaşım benimsenmiştir. Affymetrix HGU133-X3P platformu kullanılarak 50 eşleştirilmiş FFPE örneğinin (toplam 100 örnek) transkriptom profillemesi gerçekleştirilmiş olup; ayrıca daha kesin farklı olarak ifade edilmiş genleri (DEG'ler) bulmak için çoklu mRNA ve miRNA mikrodizi veri setlerinin meta analizi yapılmıştır. Aday genlerin biyoinformatik yaklaşımlar kullanılarak tanımlanmasından sonra, bu genlerin prognostik değerini doğrulamak için bağımsız GEO veri setleri kullanılarak Kaplan-Meier sağkalımı ve tümör-kontrol karşılaştırmalarında gen ifade değişim analizleri gerçekleştirilmiştir. İşlevsel yolak zenginleştirme analizi, farklı ifade edilen gen setlerinin öncelikle ECM-reseptör etkileşim yolağı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Mikroarray çalışma sonuçlarımız ile mRNA ve miRNA meta-analiz sonuçlarımızı entegre ettiğimizde, trombospondin 2 (THBS2) genini insan kolorektal kanseri gelişimi ve ilerlemesinde kilit bir düzenleyici olarak belirledik. THBS2'nin rolü ayrıca bağımsız GEO veri setlerinde de doğrulanmış olup; hayatta kalma eğrisinde açık bir fark gözlemlenmiştir. Yüksek THBS2 ifadesine sahip kolorektal kanser hastalarının genel sağkalımının daha kısa olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamız kapsamı ve güçlü ve güvenilir verileri ile THBS2'nin tümör genез ile ilişkili olduğunu ve potansiyel bir prognostik belirteç ve KRK hastaları için terapötik bir aday olduğunu ortaya koymuştur

Thrombospondin-2 overexpression has prognostic impact on colorectal cancer

Nevin Belder¹, Edibe Ece Abacı¹, Hakiimu Kawalya¹,
Namood E Sahar², Berna Savaş³, Arzu Ensari³, Ayhan
Kuzu⁴, Hilal Özdağ¹

¹Ankara University Biotechnology Institute, Ankara

²Comsats University Institute of Information

Technology, Islamabad

³Department of Pathology, Ankara University School of
Medicine, Ankara,

⁴Department of Surgery, School of Medicine, Ankara University,
Ankara,

Despite current advances in treatment options, Colorectal cancer (CRC) remains one of the main causes of cancer-related death worldwide. Thus, identifying novel prognostic biomarkers and therapeutic targets in CRC is vital for disease prevention and therapy. Here, we aimed to identify potential biomarkers associated with prognosis in CRC and clarify the underlying mechanism. Therefore, a systematic multistep approach combining microarray, meta-analysis and bioinformatics was adopted to identify a putative novel CRC biomarkers. 50 paired FFPE samples (100 samples) were subjected to transcriptome profiling using Affymetrix HGU133-X3P arrays. Meta-analysis of multiple mRNA and miRNA microarray datasets was conducted to find out more accurate differentially expressed genes (DEGs). After identification of candidate genes using bioinformatics approaches, Kaplan-Meier survival and expression analysis were performed using public GEO datasets to verify the prognostic value of our candidate genes. Functional pathway enrichment analysis showed that the genes were primarily implicated in ECM-receptor interaction pathway. When we combined our microarray study and mRNA and miRNA meta-analysis results, we identified thrombospondin 2 (THBS2), mostly up-regulated gene, as a key regulator in human colorectal cancer development and progression. The usefulness of THBS2 was verified in the independent GEO datasets and a clear separation was observed in the survival curve. High THBS2 levels predict shorter overall survival of colorectal cancer patients. Our study with the comprehensive context and strong evidences present that THBS2 is associated with tumorigenesis and become as a potential candidate prognostic marker and therapeutic candidate for CRC patients.

Bu çalışma TUBİTAK tarafından 109S477 numaralı proje ile desteklenmiştir.



SS – 33 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Meme kanseri dokusunda SRP9 Protein ekspresyonunun incelenmesi

Gizem Erdoğan¹, Didem Can Trablus², Canan Kelten Talu³, Sare Burcu Kaya¹, Mehmet Güven¹

¹*İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul*

³*İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Çalışmamızda SRP9 Proteininin meme kanseri tanısı almış hastaların normal ve tümör dokularındaki ekspresyon düzeylerini tespit edip, hastalara ait klinik veriler ile karşılaştırılması ve prognoz üzerine olası etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya meme kanseri tanısı almış 32 hasta dahil edildi. Hastaların verilerinden; hastaların yaşı, mikrokalsifikasyon, histolojik tipi, histolojik derecesi, nükleer derecesi, tümörlerin boyutu, metastatik durumu, progesteron, östrojen ve HER-2 reseptör durumu kullanılmak üzere not edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan normal ve tümörlü dokularda SRP9 protein ekspresyonu Western Blot yöntemi kullanılarak saptandı. Hastaların klinik verileri ile normal ve tümör dokusundaki SRP9 protein düzeyleri arasındaki ilişki karşılaştırıldı.

Bulgular: Tümör dokusundaki SRP9 protein ekspresyon seviyeleri normal dokuya göre istatistiksel olarak yüksek tespit edildi ($p=0,001$). SRP9 ekspresyon düzeyleri ile hastaların klinik bulguları arasındaki ilişki incelendiğinde, tümör dokusundaki SRP9 ekspresyon düzeyleri Nükleer Derece I ve II ($p=0,025$) ve Nükleer Derece III ($p=0,013$), Histolojik Derece I-II ($p=0,022$) ve Histolojik Derece III ($p=0,026$), Klinik Derece I-II ($p=0,015$) ve Klinik Derece III-IV ($p=0,036$), Mikrokalsifikasyon olan hasta ($p=0,001$) gruplarında normal dokuya göre yüksek olarak tespit edildi. SRP9 ekspresyon düzeyi lenf nodu metastazı olan hastalarda tümör dokusunda ($p=0,001$) normal dokuya göre istatistiksel olarak yüksek tespit edildi. Lenf nodu metastazı olmayan hastalarda ($p=0,235$) normal ve tümör dokusu SRP9 ekspresyon düzeyi ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. SRP9 ekspresyon düzeyi tümör büyüklüğü >2 cm ($p=0,003$) olan hastalarda tümör dokusunda normal dokuya göre istatistiksel olarak yüksek tespit edildi. Tümör büyüklüğü <2 cm hastalarda ($p=0,133$) normal ve tümör dokusu SRP9 ekspresyon düzeyi ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Sonuç: Bu çalışma meme kanseri ile SRP9 arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, meme kanseri hastalarında tümör dokusundaki artmış SRP9 protein ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. SRP9 proteininin meme kanserindeki ekspresyon artış bulgusunu anlayabilmemiz için farklı moleküler

yöntemler kullanılarak SRP9 ve ilişkili moleküllerin meme kanser patogeneziindeki rollerinin açığa çıkartılabileceğini düşünmekteyiz.

Analysing of SRP9 Protein expression level in breast cancer tissue

Gizem Erdoğan¹, Didem Can Trablus², Canan Kelten Talu³, Sare Burcu Kaya¹, Mehmet Güven¹

¹*İstanbul University- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Medical Biology Department, İstanbul*

²*İstanbul Training and Research Hospital, General Surgery Department, İstanbul*

³*İstanbul Education Research Hospital, Pathology Department, İstanbul*

Objective: We examine the SRP9 protein expression levels of normal and tumor tissues of breast cancer patients also investigate relationship between expression levels and clinical-pathological status of the patients to understand the effect on the prognosis.

Materials-Methods: SRP9 protein expression level was determined by using Western Blot method with normal and tumorous tissues from 32 women diagnosed with breast cancer. From the data of the patients; age, microcalcification, histological type, histological grade, location, nuclear grade, size of tumors, metastatic status, progesteron-estrogen-HER-2 receptors were noted. The relationship between the clinical findings of the patients and normal and tumor tissue SRP9 protein levels were compared.

Results: SRP9 protein expression levels in tumor tissue were significantly higher than normal tissue ($p=0.001$). The levels of SRP9 expression in tumor tissue were found to be statistically significantly higher than in normal tissue of patients with Nuclear Degrees I and II ($p=0.025$) and Nuclear Degree III ($p=0.013$), Histological Grade I-II ($p=0.022$) and Histological Grade III ($p=0.026$), Clinical Grade I-II ($p=0.015$) and Clinical Grade III-IV ($p=0.036$) patients with microcalcification ($p=0.001$). SRP9 expression level was statistically higher in tumor tissue ($p=0.001$) compared to normal tissue in patients with lymph node metastasis but not statistically significant in lymph node negative group. SRP9 expression level was statistically higher in tumor tissue ($p=0.003$) compared to normal tissue in patients with tumor size >2 cm but not <2 cm.

Conclusion: This is the first study to investigate the relationship between breast cancer and SRP9. According to the results of the study, increased SRP9 protein expression in tumor tissue may be associated with poor prognosis in breast cancer patients. In order to understand the expression increase of SRP9 protein in breast cancer, we think that the role of SRP9 and related molecules in breast cancer pathogenesis can be revealed by using different molecular methods.

İstanbul Üniv. BAP Birimi tarafından desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 34 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Mesane kanseri tanısında kullanılmak üzere üriner protein ve ekzozomal mikro RNA belirteci saptanması

Gökçe Güllü Amuran¹, İlker Tinay², Can Ilgın⁴, Deniz Filinte³, İrem Peker Eyüboğlu¹

¹Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada üriner ekzozomlarda miRNA ve üriner protein ekspresyonlarının mesane kanserinde biyobelirteç özelliklerinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Mesane kanseri tanısı almış 59 birey, 34 sağlıklı gönüllü ve 12 takip hastasının idrar örneklerinde ekzozomal miR-19b1-5p, 21-5p, 136-3p, 139-5p, 210-3p ekspresyonları qRT-PCR; BLCA-4, NMP22, APE1/Ref1, CRK, VIM protein ekspresyonları ELISA yöntemi ile incelendi. Tanısal panel geliştirilmesi için lojistik regresyon analizi, duyarlılık ve özgüllüğün belirlenmesi için ise ROC analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p<0.05 eşik değeri kullanıldı.

Bulgular: Mesane kanseri risk gruplarında, mir-139, -136, -19 ve 210 ekspresyon seviyesi ya da varlığının; üriner Ape1 / Ref1, BLCA4, CRK ve VIM konsantrasyonlarının sağlıklı kontrollerden farklı olduğu gözlemlendi. Gruplar arasında farklılık gözlenen moleküller lojistik regresyon analizi ile incelendi ve idrar ekzozomal miR-19b1-5p, 136-3p, 139-5p ekspresyonu ve idrar APE1 / Ref1, BLCA-4, CRK konsantrasyonlarının modele anlamlı katkısı olduğu belirlendi. Tanısal panel şöyle formüle edildi:

$$\text{logit}(p=BC) = -3.34801 - (\text{miR-139-5p} \cdot \text{var.yok} * 1.46195) + (\text{miR-136-3p} \cdot \text{var.yok} * 1.29903) + (\text{miR-19b1-5p} \cdot \text{var.yok} * 1.47543) + (\text{ApeRef1} * 0.57465) + (\text{BLCA4} * 0.10806) - (\text{CRK} * 0.71249)$$

ROC analizi, panelin mesane kanseri hastalarını % 80 duyarlılık ve % 88 özgüllük (AUC = 0.899), düşük riskli hastaları % 93 duyarlılık ve % 95.5 özgüllük (AUC = 0.976) ile sağlıklı kontrollerden ayırdığını gösterdi.

Sonuç: Düşük örnek sayısına rağmen, elde ettiğimiz panel duyarlılık ve özgüllük açısından, idrar sitolojisinden ve FDA onaylı idrar biyobelirteçlerinden daha üstün olması; aynı moleküller ile mesane kanseri sağlıklı kontrol ayrımı, erken evre mesane kanseri ve sağlıklı kontrol ayrımı yapabilmesi sebebiyle klinikte kullanım için güçlü bir adaydır. Daha büyük popülasyonlarda incelenmesi mesane kanseri tanısında yeni bir kapı aralayabilir.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-DRP-1310160441 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Identification of urinary protein and exosomal micro RNA markers for the diagnosis of bladder cancer

Gökçe Güllü Amuran¹, İlker Tinay², Can Ilgın⁴, Deniz Filinte³, İrem Peker Eyüboğlu¹

¹Department of Medical Biology, School of Medicine, Marmara University, Istanbul, Turkey

²Department of Urology, School of Medicine, Marmara University, Istanbul, Turkey

³Department of Medical Pathology, School of Medicine, Marmara University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Public Health, School of Medicine, Marmara University, Istanbul, Turkey

Objective: The aim of this study was to investigate the biomarker properties of urinary exosomal miRNAs and urinary protein concentrations in bladder cancer.

Materials-Methods: Urine exosomal miR-19b1-5p, 21-5p, 136-3p, 139-5p, 210-3p expressions of 59 bladder cancer patients, 34 healthy volunteers and 12 follow-up patients were examined by qRT-PCR. BLCA-4, NMP22, APE1 / Ref1, CRK and VIM protein expressions in urine were examined by ELISA method. Logistic regression analyzes were performed to determine the diagnostic panel, the sensitivity and specificity of the panel assessed by the ROC curve analysis. p values <0.05 were considered statistically significant.

Results: In bladder cancer risk groups, mir-139, -136, -19 and 210 expressions or positivity were found to be different and concentrations of urinary Ape1 / Ref1, BLCA4, CRK and VIM increased by 2 fold on average compared to healthy controls. Logistic regression analysis of urine exosomal miRNA expression/presence and urinary protein concentrations was performed for miRNAs/proteins that were significantly different between the groups. The resulting logistic regression model is:

$$\text{logit}(p=BC) = -3.34801 - (\text{miR-139-5p} \cdot \text{presence} * 1.46195) + (\text{miR-136-3p} \cdot \text{presence} * 1.29903) + (\text{miR-19b1-5p} \cdot \text{presence} * 1.47543) + (\text{ApeRef1} * 0.57465) + (\text{BLCA4} * 0.10806) - (\text{CRK} * 0.71249)$$

ROC analysis revealed that panel could differentiate bladder cancer patients from healthy controls with 80% sensitivity and 88% specificity (AUC = 0.899), low-risk patients from controls with 93% sensitivity and 95.5 specificity (AUC= 0.976).

Conclusion: Since the panel is superior to urine cytology in terms of sensitivity and specificity; uses the same molecules for the discrimination of BC from HC and LR BC from HC; has a higher specificity and sensitivity than FDA approved urine biomarkers, it could be a biomarker panel that can be used in clinical practice. Analyzing this panel with a large number of patient groups may initiate a new era for the diagnosis of bladder cancer.



SS – 35 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Propolis MCF-7 Hücre Hattında Anti-Kanserojen Etkinliğinin Araştırılması

Gülay Gülbol Duran

*Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Ana Bilim Dalı, Hatay*

Amaç: Propolis, bal arısı olan *Apis mellifera* L. 'nin çeşitli bitkilerden topladığı ve arıların tükürük enzimleri tarafından işlenen, arı tutkalı olarak da bilinen reçinemi bir birleşiktir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar propolis ve bileşenlerinin in vitro olarak hücre hatlarında sitotoksik etkilerinin incelendiği çalışmaların yanı sıra in vivo olarak antitümör etkisinin de olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada propolisin, insan meme kanseri hücre hattındaki (MCF-7) in-vitro apoptotik etkilerini, varsa bu etkinin hangi yolak kullanılarak gerçekleştiğini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Propolisin hücre canlılığı üzerine etkisi ve uygulanacak dozlar MTT testi ile belirlenmiştir. Caspase-8, Caspase-9 ve Bcl-2 genlerinin ekspresyon düzeyleri ise qRT-PCR yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmanın MTT analiz sonuçlarının belirlenmesi için GraphPad Prism Version 6.01 programı kullanılmıştır. QIAGEN Rotor-Gene Q cihazında yapılan ekspresyon verilerinin analizi RT2 profiler PCR Assay Data Analysis version 3.5 ile yapılmıştır.

Bulgular: Propolisin 3.9 ve 7.8 µg/ml dozları sitotoksik etki göstermezken, 15.625 µg/ml ve üzerindeki dozlarda sitotoksik etki gözlenmiştir (Resim 1). Propolisin uygulanan 3.9 µg/ml ve 7.8 µg/ml dozları, Bcl-2 ve kaspaz genlerinde herhangi bir ekspresyon farklılığını uyarmazken ($p>0,05$), 15,625 µg/ml propolis dozu Caspase-9 ekspresyonunda ise 11,89 katlık artış göstermiştir ($p=0,033$). Apoptozun ekstrinsik yolağında görev alan Caspase-8 gen ekspresyonunda anlamlı bir farklılık görülmemişken ($p=0,437$), antiapoptotik Bcl-2 gen ekspresyonunda 0.04 katlık bir azalma saptanmıştır ($p=0,000098$) (Resim 2).

Sonuç: Propolis MCF-7 hücre hattında, doza bağlı olarak apoptozu indüklemiş ve bunu intrinsik yolak üzerinden gerçekleştirmiştir. Propolisin, MCF-7 hücre hattında apoptotik etkilerinin gösterilmesi ile antikanserojen bir ajan olarak etki gösterdiğini düşünmekteyiz.

Investigation of Anti-Carcinogenic Efficacy of Propolis in MCF-7 Cell Line

Gülay Gülbol Duran

*Hatay Mustafa Kemal University Medicine Faculty, Department
of Medical Biology, Hatay*

Objective: Propolis is a resinous compound, also known as bee glue, collected from various plants by honey bee *Apis mellifera* L. and processed by the saliva enzymes of bees. In addition to the studies examining the cytotoxic effects of propolis and its components in cell lines in vitro, recent studies have shown that antitumor effect in vivo is also available. The aim of this study was to investigate the in-vitro apoptotic effects of propolis on human breast cancer cell line (MCF-7).

Materials-Methods: The effect of propolis on cell viability and the doses to be administered were determined by MTT test. Expression levels of Caspase-8, Caspase-9 and Bcl-2 genes were determined by qRT-PCR method. GraphPad Prism Version 6.01 program was used to determine MTT analysis results. Analysis of gene expression data was performed with RT2 profiler PCR Assay Data Analysis version 3.5.

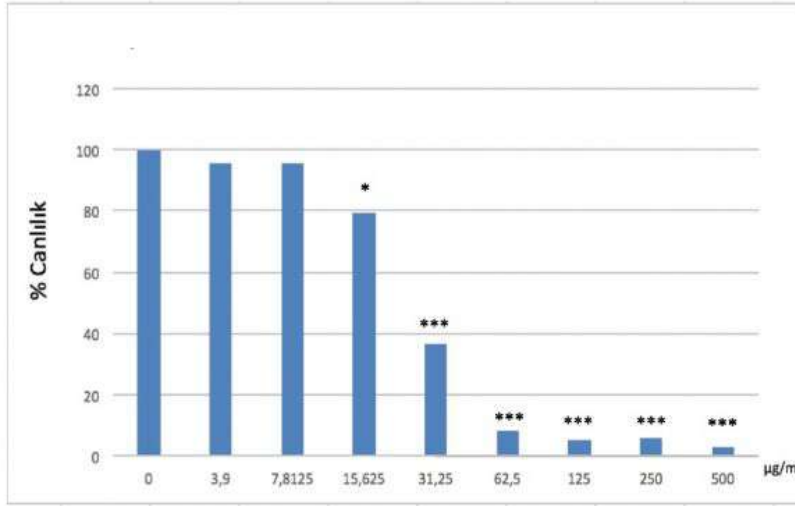
Results: While 3.9 and 7.8 µg/ml doses of propolis showed no cytotoxic effect, cytotoxic effect was observed at doses of 15.625 µg/ml and above (Figure 1). At 3.9 µg/ml and 7.8 µg/ml of propolis concentrations, no change at expression levels of genes was observed ($p>0.05$), while at 15.625 µg/ml of propolis, Caspase-9 gene expression was 11,89 fold increased ($p=0.033$). While there was no significant difference in Caspase-8 gene expression in the extrinsic pathway of apoptosis ($p=0.437$), a 0.04-fold decrease in anti-apoptotic Bcl-2 gene expression was detected ($p=0.000098$) (Figure 2).

Conclusion: Propolis induced dose-dependent apoptosis in the MCF-7 cell line and did so via the intrinsic pathway of apoptosis. We think that propolis acts as an anticarcinogenic agent by showing apoptotic effects in MCF-7 cell line.



SS – 35 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

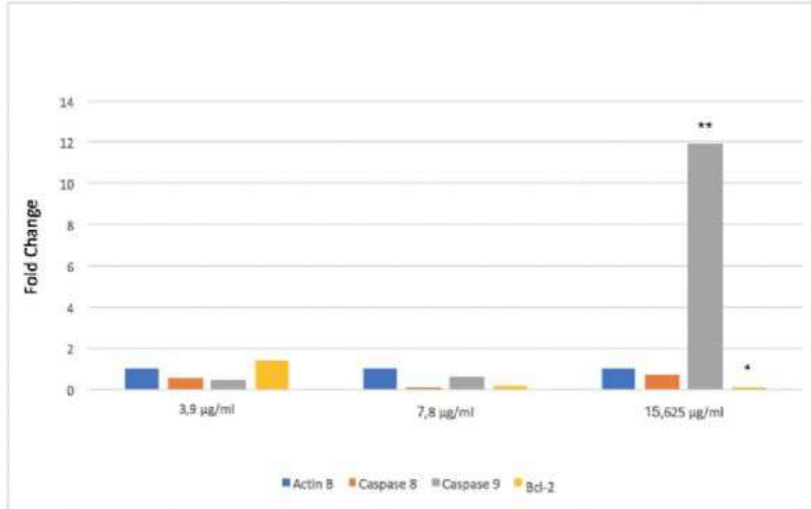
Resim 1. Propolisin MCF-7 Hücre Hattında Canlılık Üzerine Etkisi
Figure 1. Effect of Propolis on Viability in MCF-7 Cell Line



Propolis 15.625 µg/ml ve üzerindeki dozlarda sitotoksik etki göstermiştir (İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$).

Propolis has a cytotoxic effect at doses above 15.625 µg/ml (Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$).

Resim 2. Propolisin MCF-7 Hücre Hattında Apoptotik Genlerin Ekspresyon Düzeylerine Etkisi
Figure 2. Effect of Propolis on Expression Levels of Apoptotic Genes in MCF-7 Cell Line



Propolis 15.625 µg/ml dozunda Kaspaz 9 ve Bcl-2 genlerinin ekspresyon düzeylerinde anlamlı değişiklikler gözlemlendi. (İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$).

Significant changes were observed in the expression levels of Caspase 9 and Bcl-2 genes at a dose of 15.625 µg/ml of propolis (Statistical significance * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 49 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Metformin, Meme Kanseri Hücrelerinin Metastaz Ve İnvazyonu Üzerindeki Anti-Kanser Etkisini NF-κB'yi Düzenleyerek Gösterir

Güven Yenmiş¹, Kazım Şenol², Nail Beşli³, Elif Yaprak Saraç⁴, Tuğba Soydaş⁵, Matem Tunçdemir⁶, Turgut Ulutin⁶, Gönül Kanigur Sultuybek⁵

¹Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Meme Cerrahisi Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul Bilgi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul, Türkiye

⁵İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁶İstanbul Üniversitesi -Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Güncel kanıtlar, NF-κB sinyal yolunun anormal aktivasyonunun karsinogenez ile ilişkili olduğunu kuvvetle desteklemektedir. Tümör metastazi için anahtar ajan olan matris metaloproteinazlar, tümör tanısı için muhtemel adaylar olabilir. Etkili bir doza sahip metforminin, primer meme kanseri hücrelerinde (PMKH) NF-κB sinyalini azaltarak tümör proliferasyonunu ve MMP-2 ve MMP-9 ifadelerini inhibe edebileceğini hipotezi kuruldu.

ER + PR + primer meme kanseri hücreleri dört farklı dozda (0, 5, 10 ve 25 mM) metformine maruz bırakıldı. Canlılık için BRDU, NF-κB aktivitesi için ELISA yöntemi ve NF-κB ifadesi için gerçek zamanlı PCR ve MMP-2, -9 ifadeleri için immünohistokimya teknikleri kullanıldı.

Metformin, hücre canlılığını ve proliferasyonunu doza bağlı bir şekilde azalttı ve maksimum inhibisyona 25 mM metforminde ulaşıldı. RELA / p65 (NF-κB) ifadesi, 25 mM metformin muamelesinden etkilenmedi. NF-κB'nin nükleer immünoaktivitesinin, tedavi edilmeyen gruba kıyasla 25mM metformin varlığında anlamlı şekilde düştüğü (p < 0.05) sitoplazmik NF-κB (p65)'in ise anlamlı derecede yükseldiği (p < 0.05) gözlemlendi. NF-κB aktivitesi, 25 mM metformin varlığında metformin verilmeyen gruba kıyasla önemli ölçüde azaldı (p < 0.05). MMP-2'nin ekspresyonu ve immünoaktivitesi, metformin verilmemiş gruba kıyasla 25 mM metformin varlığında değişiklik göstermedi oysa 25 mM metformin varlığında MMP-9'un ekspresyonu ve immünoaktivitesi önemli ölçüde azaldı (P < 0.05).

Metformin, NF-κB sitoplazma-çekirdek translokasyonunu ve NF-κB aktivitesini engelleyen bir yolak ile MMP-9 ekspresyonunu azaltarak PMKH'nin invazyon ve metastaz yollarında bir antitümör rol oynayabilir.

Metformin Displays Its Anti-Cancer Effect On Metastasis And Invasion Of Breast Cancer Cells Through Regulating NF-κB

Güven Yenmiş¹, Kazım Şenol², Nail Beşli³, Elif Yaprak Saraç⁴, Tuğba Soydaş⁵, Matem Tunçdemir⁶, Turgut Ulutin⁶, Gönül Kanigur Sultuybek⁵

¹Department of Medical Biology, Biruni University School of Medicine, Istanbul, Turkey

²Department of Breast Surgery Uludağ University School of Medicine, Bursa, Turkey

³Department of Medical Biology, Sağlık Bilimleri University School of Medicine, Istanbul, Turkey

⁴Vocational School of Health Sciences, Istanbul Bilgi University, Istanbul, Turkey

⁵Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul Aydın University School of Medicine, Istanbul, Turkey

⁶Department of Medical Biology, Istanbul University-Cerrahpaşa School of Medicine, Istanbul, Turkey

Up to date evidence strongly promotes that aberrant activation of the NF-κB signaling pathway is associated with carcinogenesis. The matrix metalloproteinases, the key agent for tumor metastasis, may be probable candidates for tumor diagnosis. We hypothesized that metformin with an effective dose can inhibit tumor proliferation and MMP-2 and MMP-9 expressions via decreasing NF-κB signaling in primary breast cancer cells (PBCC).

ER+PR+ primary breast cancer cells were treated with four different doses (0, 5, 10 and 25 mM) of metformin. BRDU for the viability, ELISA method for NF-κB activity, and real time PCR for NF-κB expression, and immunocytochemistry for MMP-2,-9 expressions were used.

Metformin decreased the cell viability and proliferation in a dose-dependent manner, and maximum inhibition was reached at 25 mM metformin. The expression of the RELA/p65(NF-κB) was not affected by 25 mM metformin treatment. Nuclear immunoreactivity of NF-κB significantly reduced while the cytoplasmic NF-κB (p65) significantly elevated by 25mM metformin compared to the non-treated group (p<0.05). The activity of NF-κB was decreased significantly by 25 mM metformin compared to no treatment (p<0.05).

Expression and immunoreactivity of MMP-2 were not altered with 25 mM metformin compared with the non-treated group, whereas expression and immunoreactivity of MMP-9 were considerably decreased (P<0.05).

Metformin may play an antitumor role in the invasion and metastasis pathways of PBCC by downregulating the MMP-9 expression through blocking NF-κB translocation and activity.

Bu çalışma, TÜBİTAK [317S085 no'lu Proje] ve İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri [Proje No: 24066] tarafından desteklenmiştir. Mastektomi sırasında elde edilen biyopsilerden primer insan hücre kültürlerinin oluşturulmasına yönelik protokol, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Klinik Araştırma Merkezi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Onay No: 83045809-604.01.02-257133).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 50 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Metformin, ER+PR+ meme kanseri hücrelerinde, AMPK- α aracılı Siklin D1 downregülasyonu ve p53 upregülasyonu ile apoptozu tetikler

Güven Yenmiş¹, Nail Beşli², Kazım Şenol³, Gönül Kanıgür Sultuybek⁴

¹Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Meme Cerrahisi Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

⁴İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Çalışmanın amacı, primer meme kanseri hücrelerinde (PMKH) metforminin AMPK- α ilişkili siklin D1 ve Tp53 ve apoptozisin ekspresyonu üzerindeki etkisini bulmaktır. ER + PR + PMKH'ne iki doz metformin (0mM, 25mM) verildi. Proliferasyon BrdU boyama ile, siklin D1, Tp53 ve AMPK-a gen ekspresyonları gerçek zamanlı PZR ile, apoptotik indeksler akım sitometrisi ile analiz edildi. 25 mM metformin ile 24 saatlik inkübasyon, PMKH'nin proliferasyonunu azaltmıştır. PMKH'nde AMPK-a gen ekspresyonu, 25 mM metformin uygulamasından önemli ölçüde etkilendi; buradaki yüksek metformin konsantrasyonu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında AMPK-a ekspresyonu üzerinde önemli bir inhibitör etki gösterdi. 25 mM metformin ile muamele edilen PMKH'nde, muamele edilmemiş hücelere kıyasla daha düşük siklin D1 ekspresyonu gözlemlendi, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. 25mM'lik metformin dozu, metformin verilmeyen gruba kıyasla anlamlı bir şekilde p53 ekspresyonunu arttırdı. Yüksek metformin konsantrasyonu, Annexin V pozitif apoptotik hücrelerin sayısını arttırdı ve apoptotik endekste artış istatistiksel olarak anlamlı olarak gözlemlendi. Metformin, ER + PR + meme kanseri hücrelerinde AMPK-a kontrollü, siklin D1 ve p53 ekspresyonunu düzenleyerek hücre proliferasyonunun inhibisyonuna ve apoptozun tetiklenmesine yol açabilir.

Metformin Initiates Apoptosis In ER+PR+ Breast Cancer Cells Via Downregulation Of Cyclin D1 And Upregulation Of P53 Through AMPK α

Güven Yenmiş¹, Nail Beşli², Kazım Şenol³, Gönül Kanıgür Sultuybek⁴

¹Department of Medical Biology, Biruni University School of Medicine, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Biology, Sağlık Bilimleri University School of Medicine, Istanbul, Turkey

³Department of Breast Surgery Uludağ University School of Medicine, Bursa, Turkey

⁴Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul Aydın University School of Medicine, Istanbul, Turkey

The aim of the study was to figure out the effect of metformin on the expression of cyclin D1 and Tp53, and apoptosis in primary breast cancer cells (PBCCs) through AMPK- α .

ER+PR+ PBCCs were treated with two doses of metformin (0mM, 25mM). Proliferation was determined via BrdU assay. Real-time PCR was used to assess cyclin D1, Tp53, and AMPK α gene expressions; apoptotic indexes of PBCCs were calculated via flow cytometry. 24 hour-incubation with 25 mM metformin reduced the proliferation of PBCCs. AMPK α gene expression in PBCCs was considerably affected by 25 mM metformin treatment, in which high metformin concentration showed a significant inhibitory effect on AMPK α expression compared with the control group. PBCCs treated with 25 mM metformin had lower cyclin D1 expression compared with non-treated cells, however, the difference was not statistically significant. 25mM dose of metformin increased p53 expression significantly compared with the non-treated group. A high concentration of metformin elevated the number of Annexin V positive apoptotic cells and the increase in apoptotic index was statistically significant. Metformin can regulate cyclin D1 and p53 expression via expression of AMPK-a in ER+PR+ breast cancer cells, leading to cell proliferation inhibition and apoptosis induction.



SS – 51 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Hipoksinin meme kanseri hücre dizisinde Wip1 fosfataz ve 'DNA hasarı cevabının' regülasyonu üzerine etkilerinin araştırılması

Hatice Pilevneli, Mehtap Kılıç Eren

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

Amaç: Ökaryotik hücrelerde genomik stabilitenin sürdürülmesi için DNA hasarına karşı hücre içerisinde tümör baskılayıcı bir bariyer olarak görev yapan korunmuş bir DNA hasarı yanıtı (DNA Damage Response (DDR)) başlatırlar. PPM1D/Wip1 (Protein phosphatase 1D magnesium dependent/wild type p53 induced phosphatase) DDR'de p53'ün ATM/ATR kinazlarca başlatılan aktivasyonunu kapatmada DDR'ı sonlandırmada önemli rol oynayan bir fosfatazdır. Wip1'in solid tümörlerde aşırı ifade edildiği, p53'e bağlı tümör baskılayıcı cevapları (apoptozis ve senesens) inhibe ederek onkogen rolü oynadığı bilinmektedir. Solid tümörlerin karakteristiği olan tümör hipoksisi radyoterapi ve kemoterapiye direnç oluşturmakta ve tipik olarak kötü prognozla ilişkilidir. Hipoksinin, Wip1'i aşırı ifade eden tümörlerde DDR'in regülasyonu ve hücrel cevaplar üzerine etkileri bilinmemektedir. Bu çalışmada Wip1 fosfatazi aşırı ifade eden MCF-7 hücrelerinde normoksi ve hipoksi koşullarında DDR'in aktivasyonuna bağlı hücrel yanıtların (apoptosis ve senesens) regülasyonu ve Wip1'in hedeflenmesiyle kemoterapi etkinliğinin artırılıp artırılmadığı araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: MCF-7 hücrelerinde Wip1 gen kopya sayısı ve gen ekspresyonu qRT-PCR analizi ile test edilmiştir. Wip1 küçük molekül inhibitör GSK2830371 ile hedeflenmiştir. Hem normoksi hem de hipoksidede Doksorubisin'e (Dokso) maruz bırakılan hücrelerde hücre döngüsü analizi yapılarak, Annexin V-7AAD testi ile apoptozis, SA-β galaktosidaz aktivitesi ve kantitatif γ-H2AX analizi ile senesens ölçülmüştür. DDR'in aktivasyonu için ATM, ATR, Chk1, Chk2, H2AX, p53, BRCA1, p21, p27/Kip1, HIF-1α gibi proteinlerin fosforilasyon ve/veya total protein düzeyleri Western blot analiziyle test edilmiştir.

Bulgular: GSK+Dokso MCF-7 hücrelerinde hem normoksi hem de hipoksi de sinerjistik etki göstererek apoptozis ve senesensi Chk2-p53-p21 yolağını aktive ederek artırmıştır. Wip1 inhibisyonu hücre döngüsünün S fazında anlamlı bir artış sağlamıştır. Ayrıca ilk defa BRCA1'in Wip1'in defosforilasyon hedefleri arasında bulunabileceği de gösterilmiştir.

Sonuç: Wip1'in hedeflenmesi hipoksik tümörleri kemoterapiye hassas hale getirmiştir. Bu sonuçlar Wip1'i aşırı ifade eden kemoterapiye dirençli hipoksik tümörlerde GSK'nın iyi bir kombine-terapötik ajan olabileceğine işaret etmektedir.

Investigation of the effects of hypoxia on regulation of Wip1 phosphatase and 'DNA damage response' in breast cancer cell line

Hatice Pilevneli, Mehtap Kılıç Eren

Aydın Adnan Menderes University, Medical School, Department of Medical Biology, Aydın

Objective: In response to DNA damage eukaryotic cells initiate a conserved DNA damage response (DDR) acting as a tumor suppressing barrier within the cell to maintain genomic stability. PPM1D/Wip1 (Protein phosphatase 1D magnesium dependent/wild type p53 induced phosphatase) is a phosphatase playing an important role in terminating DDR by inhibition of p53. Wip1 is overexpressed in solid tumors act as an oncogene by negatively regulating cellular responses such as apoptosis and senescence. Tumor hypoxia, is characteristics of solid tumors confers resistant to radiotherapy and chemotherapy and typically associated with poor prognosis. The effects of hypoxia on regulation of DDR and cellular responses in Wip1 overexpressing tumors are unknown. Thus, utilizing Wip1 overexpressing MCF-7 cells the effects of hypoxia on DNA damage induced apoptosis and senescence as well as the possibility of increasing chemotherapeutic efficacy by targeting Wip1 were investigated.

Materials-Methods: Gene copy number and gene expression of PPM1D/Wip1 were tested by qRT-PCR analysis. Wip1 is targeted by small molecule inhibitor GSK2830371. Cell cycle analysis was performed in response to Doxorubicin in both normoxia and hypoxia. Apoptosis and senescence were tested by AnnexinV-7AAD and by SA-β galactosidase activity and γ-H2AX analysis, respectively. Activation of DDR is measured by testing phosphorylation and/or total protein levels of ATM, ATR, Chk1, Chk2, H2AX, p53, BRCA1, p21, p27/Kip1, HIF-1α proteins by WB analysis.

Results: GSK+Doxorubicine induced a synergistic effect in both normoxic and hypoxic conditions in MCF-7 cells and increased levels of apoptosis and senescence by activation of Chk2-p53-p21 pathway. Inhibition of Wip1 caused a significant increase in the S phase of the cell cycle. In addition, we propose BRCA1 might be the dephosphorylation target of Wip1.

Conclusion: Our results suggest inhibition of Wip1 may render hypoxic tumor cells susceptible to chemotherapy and that GSK may be utilized as combined-therapeutic agent in Wip1 overexpressing hypoxic tumors.

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-18007 proje numarasıyla desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 52 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Kolorektal Kanserlerde HLA-G'nin Doğal Öldürücü İnhibitör Reseptörler İle Etkileşiminin İncelenmesi

Ezgi Dinçer¹, Derya Kıvanç Peker², Fatma Kaya Dağıstanlı³, Hayriye Şentürk Çiftçi¹, Damlanur Sakız², Fatma Savran Oğuz¹

¹*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-TÜRKİYE*

²*Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul-TÜRKİYE*

³*İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-TÜRKİYE*

Amaç: Malign tümörlerin gelişimi yalnızca neoplastik transformasyonun değil aynı zamanda anormal hücreleri elimine etmede konakçı direncinin başarısızlığının da bir sonucudur. Kolorektal kanserinde (KRK), HLA-G'nin hücre yüzeyinde artışı ve doğal öldürücü (NK) hücre işlevlerinde bozulması gibi bireyin immün sisteminde çok sayıda değişiklikler görülmektedir. Çalışmamızda, sHLA-G seviyelerinin belirlenmesi ve tümörlü dokuda HLA-G ifadesinin kayıp yada yokluğu ve NK hücrelerinin öldürücü inhibitör reseptör (KIR) yüzey belirteçlerinin tümör dokusuna infiltrasyonun incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği tarafından kolorektal kanseri tanısı konmuş ve opere edilmiş 36 hasta (24E/12K) 40 sağlıklı kontrol (22K/18E) çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 62,33±11,49 yıl (yaş aralığı: 33-78) iken kontrol grubunun 50,03±11,30 yıl (yaş aralığı: 22-71) olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrollerde ELISA yöntemi ile sHLA-G seviyeleri ve tümörlü dokuda immünohistokimya (IHK) yöntemi aracılığıyla HLA-G, NK hücrelerinin öldürücü inhibitör reseptör (KIR) yüzey belirteçleri incelendi.

Bulgular: IHK çalışmasının sonuçlarına göre hastaların %86,1'inde KIR pozitifliği, %16,7'sinde HLA-G pozitifliği gözlenmiştir. HLA-G pozitifliği hasta grubunda, kontrol grubuna oranla yüksek saptanmıştır (p=0.009). Sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında KRK'li hasta dokularındaki KIR immün pozitifliğinde önemli ölçüde artış gözlenmiştir (p<0.0001). Tümör kesitlerinde, boyanma yoğunluğunun aynı tümör içindeki bir alandan diğerine değiştiği belirlenmiştir. Hasta ve kontrol serumlarındaki sHLA-G seviyeleri arasında bir farklılık gözlenmemiştir (p=0.871).

Sonuç: KRK'li hastalardaki HLA-G ve KIR belirteçleri ifadesinin artış gösterdiği gözlenmiş ve dolayısıyla KRK'de güçlü, bağımsız ve faydalı bir prognostik belirteç olabileceği düşünülmüştür. Sonuçlarımız HLA-G ve KIR belirteçlerinin gelecekteki immünoterapi için yaklaşımlar için umut vaat edici bir hedef olabileceğini düşündürmektedir.

Investigation of the Interaction of HLA-G With Natural Killing İnhibitör Receptors in Colorectal Cancer

Ezgi Dinçer¹, Derya Kıvanç Peker², Fatma Kaya Dağıstanlı³, Hayriye Şentürk Çiftçi¹, Damlanur Sakız², Fatma Savran Oğuz¹

¹*İstanbul University, İstanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İstanbul-TURKEY*

²*Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital, General Surgery Clinic, İstanbul-TURKEY*

³*İstanbul Cerrahpaşa University, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İstanbul-TURKEY*

Objective: The development of malignant tumors is not only a result of neoplastic transformation but also a failure of host resistance to eliminate abnormal cells. Colorectal cancer (CRC) may cause poor prognosis and numerous changes in individual's immune system like the absences, loss of HLA-G in cell surface, the deterioration of Natural Killer (NK) cell function and escape from the immunity. In our study we aimed to determine soluble (sHLA-G) in peripheral blood serum samples, to investigate the loss or absence of HLA-G expression in tumor tissue and the infiltration of KIR which (killer-cell immunoglobulin-like receptor) indicators on NK cell surface to the tumour tissue.

Materials-Methods: The study included 36 patients diagnosed with colorectal cancer and operated by Sadi Konuk Training and Research Hospital General Surgery Clinic and 40 healthy controls. In patients and controls, sHLA-G levels were searched by ELISA method and killer inhibitory receptor (KIR) surface markers of HLA-G, NK cells were examined by immunohistochemistry (IHK) method in tumor tissue.

Results: KIR positivity was detected in 86.1% of patients and HLA-G positivity was observed in 16.7% of the patients. HLA-G positivity was higher in the patient group compared to the control group (p=0.009). Significant increases in KIR immune positivity were observed in tissues with CRC compared to healthy controls (p<0.0001). In tumor sections, it was observed that the staining intensity varied from one area of the same tumor to another. No difference was observed between sHLA-G levels in patient and control sera (p=0.871).

Conclusion: It has been observed that the expression of HLA-G and KIR markers is increased in patients with CRC and therefore it might be a strong, independent and useful prognostic marker in CRC. Based on our results, we suggest that HLA-G and KIR markers might be a promising target for the future immunotherapeutic approaches.

Bu çalışma İstanbul Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiş Tez Projesidir. Proje No:23910



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 53 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hastalarının Bronş Lavajında PTEN Geninin Fluoresan in situ Hibridizasyon ve İmmünohistokimya Yöntemleri ile Araştırılması

Hilal Şahin¹, Matem Tunçdemir¹, Salih Serdar Erturan², Ayhan Deviren²

¹*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı İstanbul*

²*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı İstanbul*

Amaç: Akciğer kanserli hastalarda prognoz, tanının konulduğu andaki evre ile ilişkilidir. Akciğer kanserleri; Küçük hücreli akciğer kanseri ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Akciğer kanseri hastalarının balgamlarında ve bronkoskopik örneklerinde kanser hücrelerinin tespit edilmesi, spesifik anomalilerin ve belirteçlerinin araştırılması bakımından önemlidir. Çalışmamızda, küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarının bronşiyal lavaj materyallerinde, *PTEN* geninin interfaz fluoresan in situ hibridizasyon metodu kullanılarak tespit edilmesi ve *PTEN* ekspresyon seviyelerinin ise immünohistokimya yöntemi ile gösterilmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı alan 30 hasta ve herhangi bir malignitesi bulunmayan 10 kontrol bireyden alınan bronşiyal lavaj materyali kullanıldı. *PTEN* geni interfaz fluoresan in situ hibridizasyon metodu kullanılarak, *PTEN* ekspresyon seviyeleri ise immünohistokimya yöntemi ile gösterildi. Elde edilen bulgular istatistiksel olarak analiz edildi.

Bulgular: interfaz fluoresan in situ hibridizasyon metodu ile küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarında *PTEN* delesyonunun kontrol grubuna kıyasla artmış olduğunu, buna karşı immünohistokimya yönteminde ise her hastada farklı yoğunluklarda sitoplazmik ve nükleer *PTEN* ekspresyonu olduğunu gözlemledik.

Sonuç: Bronşiyal lavaj örneklerinde immünohistokimyasal boyama yönteminin rutinde hem daha hızlı, daha kolay, hem de daha ekonomik olması açısından bir tanı aracı olarak kullanılabileceğini ve ayrıca *PTEN* genindeki genetik değişiklikleri analiz etmede de immünohistokimya yönteminin yanında, daha hassas sonuçlar sağlayan fluoresan in situ hibridizasyon tekniğinin hastalık tanısında uygun bir yöntem olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Investigation of the PTEN Gene in the Bronchial Lavage of Non-Small Cell Lung Cancer Patients with Fluorescent In situ Hybridization and Immunocytochemistry

Hilal Şahin¹, Matem Tunçdemir¹, Salih Serdar Erturan², Ayhan Deviren²

¹*Istanbul University-Cerrahpaşa- Cerrahpaşa Medical Faculty- Department of Medical Biology Istanbul*

²*Istanbul University-Cerrahpaşa- Cerrahpaşa Medical Faculty- Department of Department of Chest Diseases Istanbul*

Objective: The prognosis in patients with lung cancer is related to the stage at the time of diagnosis. Lung cancers are divided into two main groups as small cell lung cancer (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC). The detection of cancer cells in the sputum and bronchoscopic samples of lung cancer patients is important in terms of investigating specific anomalies and markers. In our study, it was aimed to determine the *PTEN* gene by using interfase fluorescent in situ hybridization (iFISH) method in bronchial lavage materials of patients with NSCLC and to demonstrate the expression levels of *PTEN* by immunocytochemistry (ICH) method.

Materials-Methods: In our study, 30 patients diagnosed with NSCLC from bronchial lavage material and 10 control subjects without any malignancy were used. *PTEN* gene detected with iFISH method and *PTEN* expression levels were determined by ICH method. The results were statistically analyzed.

Results: We observed that *PTEN* deletion was increased in patients with NSCLC “compared to the control group” by iFISH method, whereas in the immunocytochemistry method, we observed cytoplasmic and nuclear *PTEN* expression at different concentrations.

Conclusion: We suggest that immunocytochemical staining method can be used as a diagnostic tool in the routine, both faster, easier and more economical in bronchial lavage samples. In addition, in the analysis of genetic changes in the *PTEN* gene, in addition to immunocytochemistry method, we suggest that FISH technique which provides more accurate results can be used as an appropriate method in diagnosis of disease.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

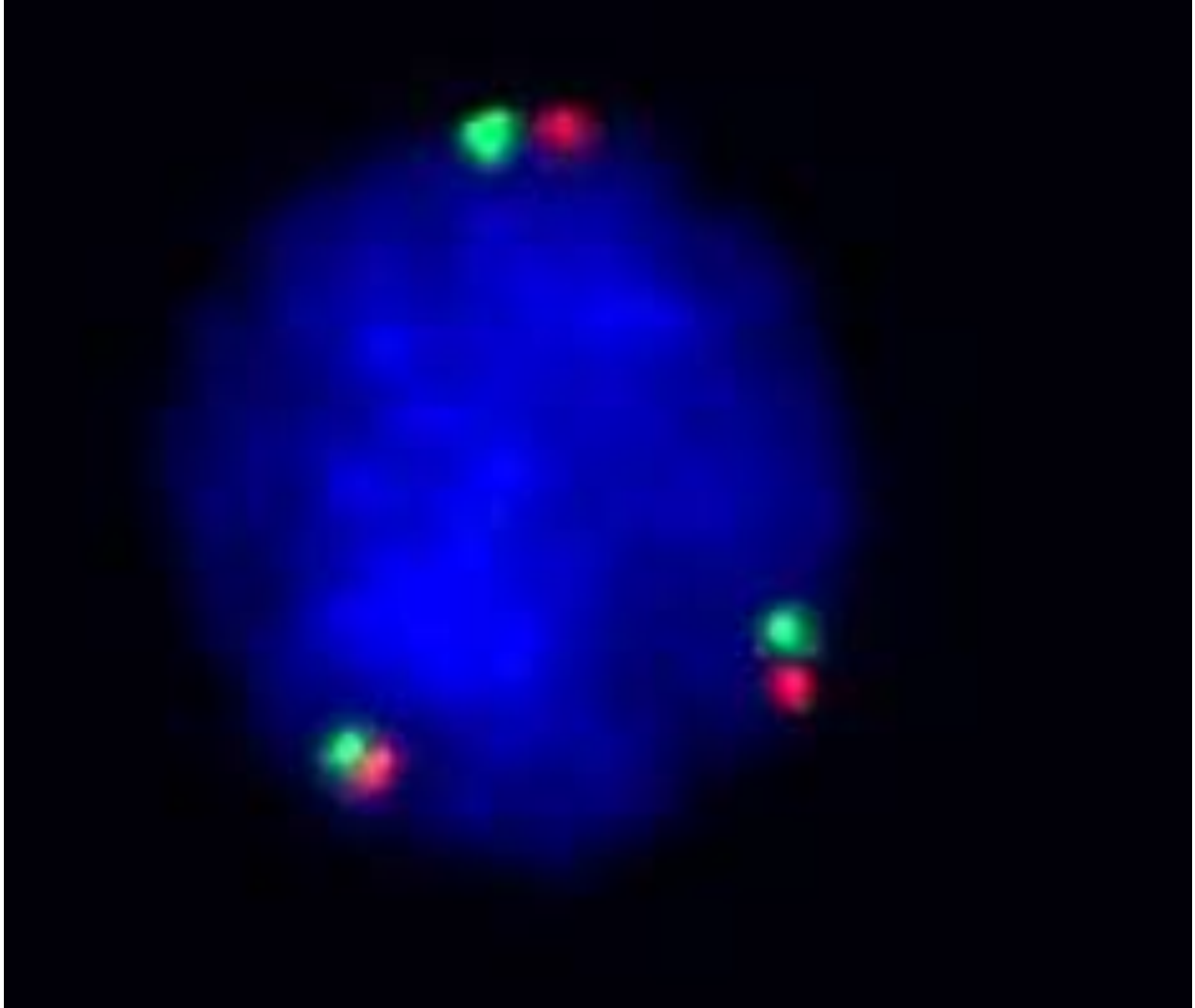
ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 53 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Hasta grubunda gözlenen bazı sinyal bulguları
Some signal findings observed in the patient group



Adenokarsinom tanılı bir olguya ait 3Y3K sinyal içeren bir hücrenin iFISH görüntüsü.
iFISH image of a cell with a 3Y3K signal from a case with adenocarcinoma.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

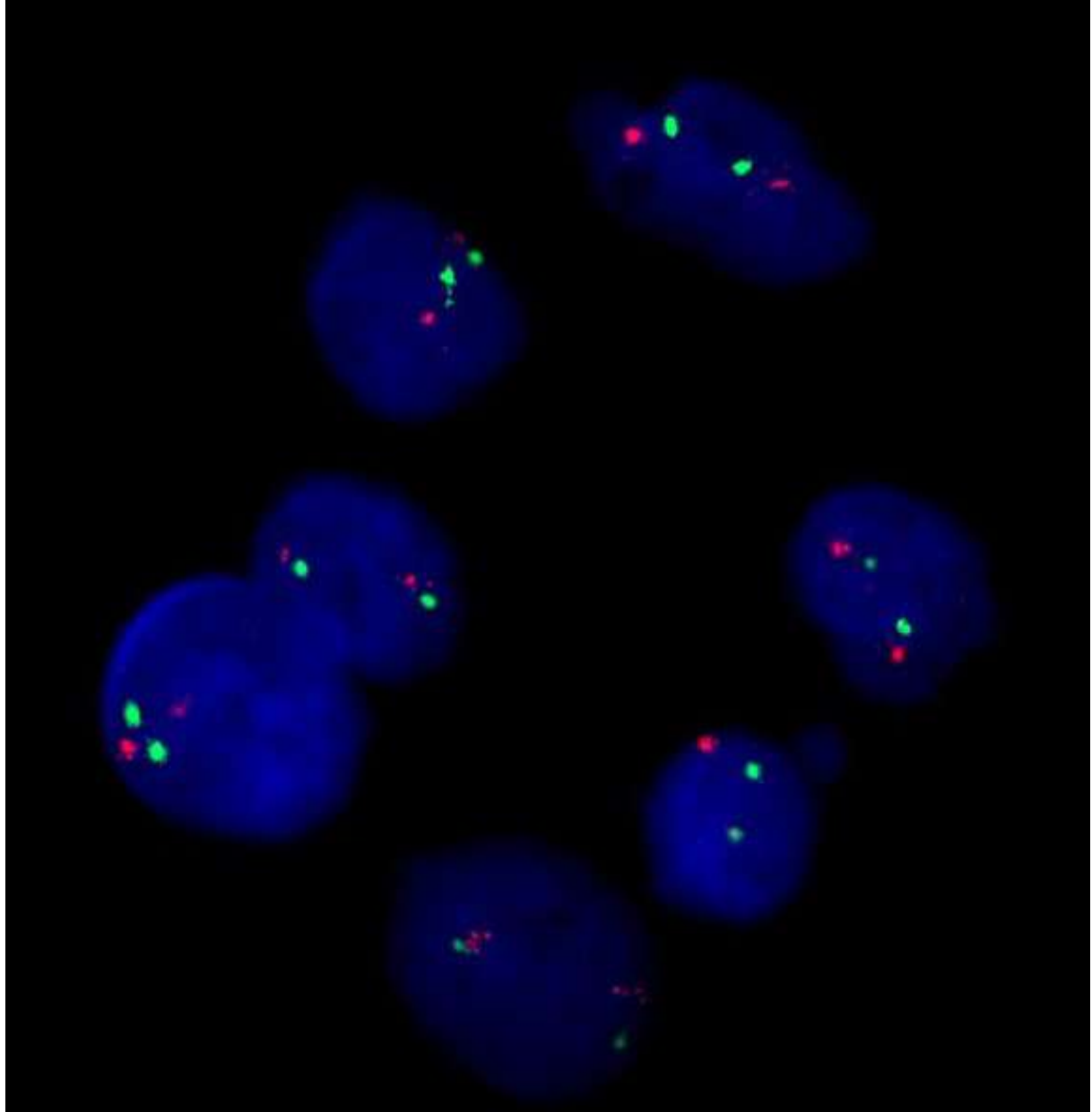
ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 53 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Hasta grubunda gözlenen bazı sinyal bulguları
Some signal findings observed in the patient group



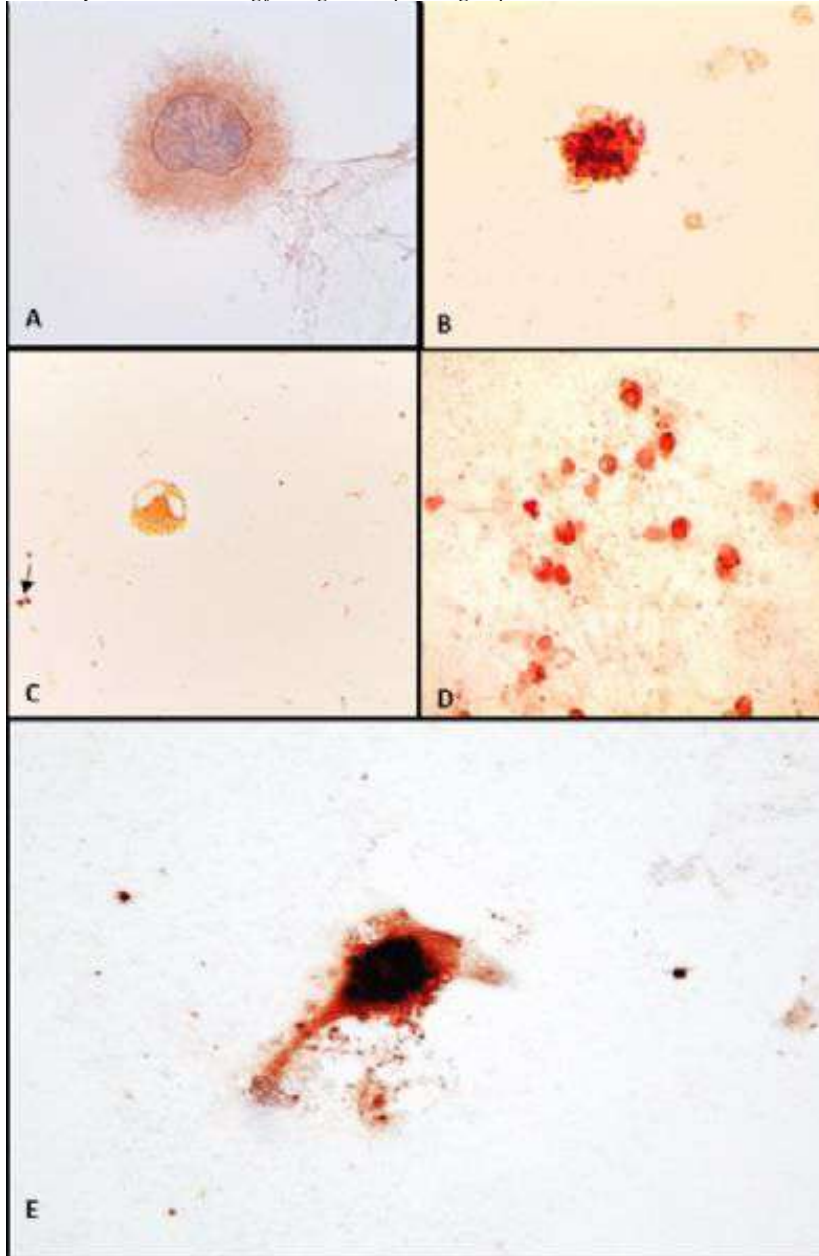
Skuamöz hücreli akciğer kanseri tanılı bir olguya ait (A) normal sinyal içeren (2Y2K) ve (B) atipik sinyal içeren (2Y1K) iki hücrenin iFISH görüntüsü.

IFISH image of (A) normal signal (2Y2K) and (B) atypical signal (2Y1K) of a patient with squamous cell lung cancer.



SS – 53 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Hasta grubunda gözlenen immünohistokimyasal boyama bulguları
Immunocytochemical staining findings in the patient group



Skuamöz hücreli akciğer kanseri tanılı dört farklı olguya ait PTEN (+) makrofaj hücreleri. A) Hücre sınırları oldukça belirgin olan aktif PTEN(+) bir makrofaj hücresi (X100). B) İçi granül dolu yıpranmış ve yaşlanmış bir PTEN(+) makrofaj hücresi (X40). C) Vokuolleşmiş juvenil bir makrofaj hücresi. Hemen etrafında görülen yoğun PTEN(+) boyanmış lenfosit hücreleri (→)(X40). D) İçi granüllerle dolu PTEN(+) makrofaj hücreleri (X40). E) Siliyalı yüzey epitelinden köken alan hasarlanmış yoğun PTEN(+) makrofaj hücresi. Zıt boyama: Hematoxilen (x100)
PTEN (+) macrophage cells from four different cases of squamous cell lung cancer A) Active PTEN (+) is a macrophage

cell (X100) with very clear cell boundaries. B) A worn and aged PTEN (+) macrophage cell (X40) filled with granules. C) A juvenile macrophage cell that is vacuolized. Dense PTEN (+) stained lymphocyte cells seen immediately around (→) (X40). D) PTEN (+) macrophage cells (X40) filled with granules. E) Damaged dense PTEN (+) macrophage cell originating from the ciliary surface epithelium. Contrast staining: Hematoxylin (x100)

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 23004



SS – 54 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Prostat kanserinde androgen reseptör varyantlarının NF-kB ve HSP27 sinyal yolları üzerine etkileri

İlker Kılıçcioğlu¹, Cenk Y. Bilen², Sinan Sözen³, Ece Konaç¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye

Amaç: Androgen reseptörünün (AR) alternatif kesimlenmesi ile oluşan AR varyantları, son yıllarda prostat kanseri (PK) alanındaki önemli bir araştırma konusudur. Bu çalışmada, PK'de regülasyonu bozulmuş olan AR ekseninde NF-kB, HSP-27 gibi ilişkili sinyal yollarındaki anahtar genlerin ekspresyonu, PK hücre hatlarında ve farklı evrelerdeki hasta örneklerinde araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: HSP-27 inhibitörü KRIBB-3 ile NF-kB yolağı inhibitörü BAY-117082'nin anti-proliferatif ve anti-apoptotik etkileri PC-3, LNCaP ve 22Rv1 PK hücre hatlarında incelendi. AR-V7 pozitif 22Rv1 hücre hattı üzerinde bu inhibitörlerin ve AR-V7 siRNA baskılamanın kombinasyonu ile, ilişkili genler NF-K β -p65, p-IKK α/β , p-HSP-27, AR, AR-V7, AR-V567es, Bcl-2 ve Noxa üzerindeki etkileri western blot ile protein düzeyinde incelenmiştir. Ayrıca, Üroloji kliniğine başvuran hastalardan alınan total periferik kan örneklerinden AR, AR-V7 ve AR-V567es genlerinin real-time PCR ile RNA düzeyinde ekspresyonları incelenerek hastalığın evresine özgü ifade profillemesi yapılmıştır. Bu kanlardan elde edilen serum örneklerinde de, HSP-27 ve NF-kB aktivitesi ELISA kitleri ile protein düzeyinde araştırılmıştır.

Bulgular: PK hücrelerinde Hsp-27 ile NF-KB inhibitörlerinin kombinasyonu sinerjistik olarak hücrelerin proliferasyonunu azaltmış, AR ekspresyonunda da anlamlı bir azalma gözlenmiştir. 22Rv1 hücrelerinde AR ile birlikte AR-V7 ekspresyonunda da gözlenen azalmış ifadenin, AR ve AR-V7'nin birlikte çalıştığını gösteren önemli bir sonuçtur. 22Rv1 hücrelerinde AR-V7'nin siRNA baskılanmasından sonra AR ifadesinde görülen azalma bu sonucu desteklerken, apoptotik yanıtta gözlenmiştir. AR / AR varyantları ve NF-kB ile HSP-27 serum düzeyleri metastatik hasta grubunda anlamlı derecede yüksek düzeyde bulunmuştur (p<0.05).

Sonuç: Bulgularımız, ileri evre PK vakalarında güncel yaklaşım olan androgen reseptörleri blokajının yanı sıra, NF-kB yolağını ve AR regülasyonunda önemli HSP-27 proteinini hedefleyen terapilerin de önemli olabileceğini göstermektedir.

Effects of androgen receptor variants on NF-kB and HSP27 signaling pathways in prostate cancer

İlker Kılıçcioğlu¹, Cenk Y. Bilen², Sinan Sözen³, Ece Konaç¹

¹Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Beşevler, Ankara, Turkey

²Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Urology, Sıhhiye, Ankara, Turkey

³Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Urology, Beşevler, Ankara, Turkey

Objective: Androgen receptor (AR) variants caused by alternative splicing of the AR have been an important research topic in prostate cancer (PCa) in recent years. In this study, the expression of key genes in related signaling pathways such as NF-kB, HSP-27 on the AR axis, which was impaired in PCa, was investigated in PCa cell lines and patient samples at different stages.

Materials-Methods: The anti-proliferative and anti-apoptotic effects of HSP-27 inhibitor KRIBB-3 and NF-kB pathway inhibitor BAY-117082 were investigated in PC-3, LNCaP and 22Rv1 PCa cells. By the combination of these inhibitors and AR-V7 siRNA suppression, the associated genes NF-K β -p65, p-IKK α/β , p-HSP-27, AR, AR-V7, AR-V567es, Bcl-2 and Noxa were examined at protein level by western blot on the AR-V7 positive 22Rv1 cells. In addition, the expression of AR, AR-V7 and AR-V567es genes were evaluated by real-time PCR at RNA level and disease profiling was performed. Serum HSP-27 and NF-kB activity were also investigated by ELISA kits at protein levels.

Results: The combination of Hsp-27 and NF-kB inhibitors in PCa cells synergistically decreased the proliferation of cells, and a significant reduction in AR expression was observed. The decreased expression observed in AR-V7 expression with AR in 22Rv1 cells is an important result showing that AR and AR-V7 work together. The reduction in AR expression after siRNA suppression of AR-V7 in 22Rv1 cells supported this result, while apoptotic response was also observed. mRNA levels of AR / AR variants and NF-kB and HSP-27 serum levels were significantly higher in metastatic patients (p < 0.05).

Conclusion: Our findings suggest that in addition to the current approach of AR blockade in advanced PCa cases, therapies targeting the HSP-27 protein, which is an important AR regulator, and NF-kB pathway may be important.



SS – 55 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Ailesel Meme Kanseri Hastalarında BRCA1 ve BRCA2 Genlerinin Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile Dizilenmesi ve Telomer Uzunluğuyla İlişkisi

İrem Peker Eyüboğlu¹, Güven Yenmiş², Elif Naz Bingöl³, Şirin Yüksel⁴, Fatma Tokat⁵, Pemra Özbek⁷, Gökçe Güllü Amuran¹, Cengiz Yakıcıer⁶, Mustafa Akkiperik¹

¹Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Departmanı, İstanbul, 34899, Türkiye.

²Acibadem Sağlık Grubu, Acibadem Labgen, İstanbul, Türkiye

³Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biomühendislik Departmanı, İstanbul, 34722, Türkiye.

⁴Acibadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Departmanı, İstanbul, Türkiye

⁵Acibadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Patoloji Departmanı, İstanbul, Türkiye

⁶Acibadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Fenoloji Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

⁷Marmara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biomühendislik Departmanı, İstanbul, 34722, Türkiye.

Kalıtsal meme kanserinin en yaygın sebebi, meme kanseri geni-1 ve 2 (BRCA1 ve BRCA2) genlerinde kalıtılan mutasyonlardır. DNA onarım yollarında yer alan birçok protein, telomerlerle ilişkilendirilmiştir ve bu sebeple DNA onarımı ile telomer fonksiyonu arasında fonksiyonel bağlantılar olduğu söylenebilir. BRCA1 ve BRCA2'nin telomer uzunluğu üzerindeki muhtemel etkilerine dayanarak, erken meme kanseri gelişen ve risk altında olan hastalarda BRCA1 / 2 genlerindeki mutasyonların yeni nesil dizileme yöntemiyle belirlenmesi ve telomer uzunluğu arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmıştır. 113 bireyden oluşan hasta ve yüksek risk grubunda, 66 örnekte (%58,4) BRCA1 ve/veya BRCA2 geninde herhangi bir mutasyon belirlenememiş, diğer 47 örnekte (%41,6), 31 BRCA2 geni mutasyonu ve 21 BRCA1 geni mutasyonu tanımlanmıştır. Hastaların telomer uzunlukları ile mutasyon varlığı karşılaştırıldığında, bu genlerde mutasyon taşıyan bireylerin telomer uzunluklarının yaş eşleşmesi yapılan mutasyon taşımayan bireylerden istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa olduğu bulunmuştur. BRCA2 geninde daha önce belirtilmemiş c.8680C>G mutasyonu bulunmuş ve bu mutasyonun modellemesi yapıp proteinin yapısı değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz bulgular meme kanseri gelişme riski yüksek olan bireylerde BRCA1 ve BRCA2 genlerinin mutasyonel analizinin önemini göstermektedir. BRCA1 ve BRCA2 geninde mutasyon taşıyan kişilerin, taşımayanlara göre daha kısa telomer uzunluğuna sahip olması, BRCA1 ve BRCA2 genlerinin telomer uzunluğu mekanizmasında rol aldığı yönündeki bulguları desteklemektedir.

Impact of BRCA1 and BRCA2 Mutations on Telomere Length in Breast Cancer

İrem Peker Eyüboğlu¹, Güven Yenmiş², Elif Naz Bingöl³, Şirin Yüksel⁴, Fatma Tokat⁵, Pemra Özbek⁷, Gökçe Güllü Amuran¹, Cengiz Yakıcıer⁶, Mustafa Akkiperik¹

¹Department of Medical Biology, School of Medicine, Marmara University, Istanbul, 34899, Turkey.

²Acibadem Healthcare Services, Acibadem Labgen Genetic Diagnostic Center, Istanbul, Turkey.

³Department of Bioengineering, Institute of Pure and Applied Sciences, Marmara University, Kadikoy, Istanbul 34722, Turkey.

⁴Department of Molecular Biology and Genetics, Acibadem Mehmet Ali Aydınlar University, Istanbul, Turkey.

⁵Department of Pathology, subdivision of Cytopathology, Acibadem University, Kayisdagi cd. Atasehir, Istanbul, TR, 34750 Turkey.

⁶Acibadem Mehmet Ali Aydınlar University, Phenology Research Institute, Istanbul, TURKEY

⁷Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Marmara University, Kadikoy, Istanbul 34722, Turkey.

The most common cause of hereditary breast cancer is the mutations inherited in the genes of breast cancer gene-1 and 2 (BRCA1 and 2). Many proteins involved in DNA repair pathways have been associated with telomeres. These might propose that there are functional connections between DNA repair and telomere function. Based on the possible effects of BRCA1 and BRCA2 on telomere length, it was aimed to determine mutations in BRCA1/2 genes by the next generation sequencing method and to evaluate the relationship between telomere length in patients who develop early breast cancer and who are at risk of developing breast cancer. 31 BRCA2 gene mutations and 21 BRCA1 gene mutations were identified in 47 samples (41.6%) out of 113 individuals. When mutation status was compared with telomere length, individuals carrying a mutation in either BRCA1 and/or BRCA2 gene were shorter than those who did not carry the mutation, and this result was statistically significant. c.536_537insT and c.10078A>G are the two rare, and c.8680C>G is the one novel mutation we found in the BRCA2 gene. Homology modeling study of the novel mutation in the DNA binding tower domain of BRCA2 gene was performed and the structure of the protein evaluated. The shorter telomere length of BRCA1 and BRCA2 gene mutants supports the findings that these genes play a role in the telomere length mechanism.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 56 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

***Crithmum maritimum* uçucu yağının A549 akciğer kanser hücrelerinde NFkB yoluğı üzerine etkileri**

Levent Elmas¹, Mücahit Seçme¹, Ali Çelik², Yavuz Dodurga¹

¹Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli, TÜRKİYE

²Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli, TÜRKİYE

Crithmum maritimum, Apiaceae familyasına ait fakültatif halofit bir bitkidir. Akdeniz, Karadeniz ve Avrupa Atlantik sahillerinde yayılış göstermektedir. Biyolojik aktif madde açısından zengin içeriğı sahiptir, bu nedenle geleneksel tıpta iştah açıcı, tonik, gaz çıkarıcı, diüretik veya obesite için kullanılmıştır. Uçucu yağı kozmetik alanında yaygın olarak kullanılmaktadır fakat uçucu yağın kanser üzerine etkisi hakkında bir bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, *C. maritimum* uçucu yağının A549 akciğer kanser hücrelerinde NFkB yoluğı üzerine olası etkisini araştırmaktır. *C. maritimum* uçucu yağının A549 hücre hattındaki sitotoksik etkisi ve IC50 dozu lüminometrik bir yöntem olan CellTiter-Glo ile belirlenmiştir. IC50 dozu uygulamasından sonra, Trizol ile RNA izolasyonu yapılmış ve takiben cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağın, NFkB yoluğında rol oynayan genlerin ekspresyonuna etkisi, 84 geni içeren panel kullanılarak SYBR Green metoduna göre real-time PCR ile analiz edilmiştir. Tüm sonuçlar RT2-PCR Profiler Assay kullanılarak analiz edilmiştir. *C. maritimum* uçucu yağı, A549 hücrelerinin proliferasyonunu doza ve zamana bağılı olarak inhibe etmiştir. Uçucu yağın IC50 değeri, 24. saatte 0,8923 mg/ml olarak tespit edilmiştir. NFkB panel sonuçlarına göre doz grubunda kontrole göre, çok sayıda genin mRNA ekspresyonu anlamlı şekilde azalmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, *C. maritimum* uçucu yağı A549 hücrelerinin proliferasyonunu NFkB yoluğı üzerinden azaltıyor olabilir. *C. maritimum* uçucu yağının kanser üzerindeki moleküler mekanizmalarını aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Effects of *Crithmum maritimum* essential oil upon NFkB pathway on A549 lung cancer cells

Levent Elmas¹, Mücahit Seçme¹, Ali Çelik², Yavuz Dodurga¹

¹Department of Medical Biology, School of Medicine, Pamukkale University, Denizli, TURKEY

²Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Pamukkale University, Denizli, TURKEY

Crithmum maritimum which belongs to Apiaceae family, is a facultative halophyte plant. It is found along Mediterranean, Black Sea and European Atlantic coasts. It is rich in terms of biologically active compounds, therefore it was used in folk medicine like an appetizer, tonic, carminative, diuretic or treating obesity. Its essential oils are widely used in cosmetic but there are no information about effects of *C. maritimum* essential oil to cancer. The aim of this study is to investigate the possible effects of *C. maritimum* essential oil on NFkB pathway to A549 lung cancer cells. The cytotoxic effects of *C. maritimum* essential oil on A549 cell line was determined with luminometric CellTiter-Glo assay and IC50 dose was determined. After treatment of IC50 dose, RNA was extracted via Trizol reagent subsequently cDNAs were synthesized. The possible effect of essential oil to gene expressions which role in NFkB pathway analysed with real-time PCR panel including 84 genes according to SYBR Green method. All results were analysed by RT2-PCR Profiler Assay. The essential oil of *C. maritimum* inhibited the proliferation A549 cells in a dose- and time-dependent manner. IC50 value of essential oil was determined as 0,8923 mg/ml at 24 hour. According to NFkB panel results, mRNA expressions of numerous genes were significantly decreased in dose group in comparison with control group. The findings of this study suggest that essential oil *C. maritimum* may decrease cell proliferation of A549 cells through NFkB pathway. Further studies are needed to exhibit its molecular mechanisms in cancer.



SS – 57 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

***Olea europaea* Yaprak Özütünün (OLE) Glioblastoma Hücrelerinin Agresifliği Üzerine Etkilerinin 3 Boyutlu Tümör Modelinde Gösterilmesi**

Melis Mutlu, Berrin Tunca, Seçil Ak Aksoy, Çağla Tekin, Ünal Egeli, Gülşah Çeçener

Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Bursa

Glioblastoma, merkezi sinir sisteminde en yaygın görülen ve en agresif olan beyin tümörüdür. Temozolomid (TMZ), Glioblastoma tedavisinde kullanılan kemoterapi ilacıdır. Ancak TMZ tedavisine rağmen bu hastaların prognozu oldukça kötü seyretmektedir. Son yıllarda kanser tedavisi üzerine yeni stratejilerin geliştirilmesinde bitki özütlerinden yararlanılmaktadır. Mevcut çalışmada, daha önceki araştırmalarımızla sitotoksik etkisi belirlenen *Olea europaea* yaprak özütünün (OLE) Glioblastoma hücre hattı T98G hücrelerinde tek başına ve TMZ ile birlikte kombin kullanılmasıyla tümörün agresifliği üzerine etkilerinin belirlenmesi ve aynı zamanda 3 boyutlu (3B) tümör modeli ile tümör boyutuna olan etkilerinin tespit edilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda, OLE'nin tümörün agresifliği ile ilişkisi, kanser kök hücre (CSC) belirteçlerinin (*CD133*, *NANOG*, *SOX2*, *OCT4*) RT-PCR'da analiz edilmesi ile belirlenmiştir. OLE'nin tümör boyutu üzerine etkisinin tespiti için ise 3B tümör modeli geliştirilmiştir. 2 mg/ml OLE ile muamele edilen T98G hücrelerin, muamelesiz T98G hücreleri ile kıyaslandığında *SOX2* ve *CD133* genlerinin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ($p=0.025$, $p=0.044$). 350 μ M TMZ ile muamele edilen T98G hücrelerinin *CD133* geninin ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($p=0.003$). OLE+TMZ kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerde *NANOG*, *SOX2* ve *CD133* genlerinin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($p=0.003$, $p=0.003$, $p=0.019$). OLE, TMZ ve OLE+TMZ kombinasyonunun T98G hücrelerinde 3B tümör modeli üzerine etkisi değerlendirildiğinde 2mg/ml OLE'nin 120. saatin sonunda muamele edilmeyen T98G hücrelerine göre tümör boyutunu 56.3 kat azalttığı tespit edildi ($p<0.0001$). 350 μ M TMZ'nin muamele edilmemiş T98G hücrelerine göre 120. saatin sonunda tümör boyutunu 2.6 kat azalttığı, OLE+TMZ kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerde ise tümör boyutunu 11.8 kat daha düşürdüğü saptandı ($p<0.0001$). Sonuç olarak OLE'nin tek başına ve TMZ ile birlikte CSC belirteçlerini inhibe ederek tümörün agresifliğini önlediği, OLE'nin tek başına 3B tümör modelinde tek başına TMZ'den daha fazla küçülme gösterdiği saptanmıştır. Yapılacak ileri analizler ile OLE'nin ilaç olabilme potansiyelinin olabileceği gösterilmiştir.

Demonstration of the Effects of *Olea europaea* Leaf Extract (OLE) on Aggression of Glioblastoma Cells in 3D Tumor Model

Melis Mutlu, Berrin Tunca, Seçil Ak Aksoy, Çağla Tekin, Ünal Egeli, Gülşah Çeçener

Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Bursa

Glioblastoma is the most aggressive brain tumor in the central nervous system. Temozolomide (TMZ) is a chemotherapy drug used to treat glioblastoma. Despite TMZ treatment, the prognosis of these patients is very poor. In recent years, plant extracts are used to develop new strategies on cancer treatment. We aim of this study, determine the effects of *Olea europaea* leaf extract (OLE) on tumor aggressiveness and effects on tumor size with 3D tumor model in T98G cells. For this purpose, the effect of OLE on cancer stem cell (CSC) markers (*CD133*, *NANOG*, *SOX2*, *OCT4*) was determined in RT-PCR. 3D tumor model was used to determine the effect of OLE on tumor size. A statistically significant reduction in the expression levels of *SOX2* and *CD133* genes was detected in 2 mg/ml OLE treated T98G cells ($p=0.025$, $p=0.044$). A statistically significant decrease in the expression level of the *CD133* gene of T98G cells treated with 350 μ M TMZ was observed ($p=0.003$). There was a statistically significant decrease in expression levels of *NANOG*, *SOX2* and *CD133* genes in the cells treated with OLE+TMZ combination ($p=0.003$, $p=0.003$, $p=0.019$). It was found that 2mg/ml OLE reduced tumor size 56.3-fold compared to untreated T98G cells at 120th hour ($p<0.0001$). It was determined that 350 μ M TMZ reduced tumor size 2.6-fold and treated with OLE + TMZ combination decreased the tumor size by 11.8 times ($p<0.0001$) after 120 hours compared to untreated T98G cells. As a result, alone OLE and combination with TMZ was found to inhibit tumor aggressiveness by inhibiting CSC markers. It was found that alone OLE decreased more than TMZ alone in 3D tumor model alone. Further analysis has shown that OLE has the potential to become a drug.

Mevcut çalışma, yüksek lisans tez projemdir ve 118S799 numaralı TÜBİTAK 1002 projesi kapsamında desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 58 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Endometrial Kanserlerde PTEN Ekspresyonunun Prognostik Faktörlerle Karşılaştırılması

Mesut Can¹, Nazlı Karagöz Can², Yusuf Kurtulmuş¹

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD. Aydın.

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD. Muğla.

Amaç: Endometrium kanseri günümüzde kadınlarda görülen kanserler içinde dördüncü sıradadır. Endometrial karsinomlar kadın genital sisteminin en sık görülen malign tümörü olup, %80-85 olguda östrojen bağımlı iken, %10-15 olguda östrojen bağımlı değildir. Endometrial karsinomlar tip I ve tip II olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Tip I endometrial karsinomlar anovulasyon ya da östrojen replasman tedavisi öyküsüne sahip 40-60 yaşları arasındaki genç hasta grubunda görülür. Tip II endometrial karsinomlar ise hiperplazi ve östrojen fazlası ile ilişkisi olmayan saldırgan tümörlerdir. Tümör supresör gen PTEN (phosphatase ve tensin homolog), 10. kromozomun uzun kolunda (q), 23.3 pozisyonunda lokalize olup, primer hedefi PIP3 adı verilen lipid molekülü olan, bir fosfataz kodlar. PIP3, hücre büyümesi ve apoptozu regüle eden sinyal iletim yolu üzerinde çalışır. PTEN' in, tümör büyümesinde supresör, gelişim ve metastazında ise inhibitör rol oynadığı gösterilmiştir.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda 2 grup oluşturduk. Kontrol grubu: erken yaş tip 2 endometrial kanser teşhisi almamış kişilerden oluşan kontrol grubu ve erken yaş östrojen bağımlı olmayan tip 2 endometrial kanser teşhisi almış hasta grubu. Hastalara ait hastane arşivinde bulunan hasta yaşı, CEA, p53, miyometrial invazyon, lenfovasküler invazyon ve servikal invazyon değerleri kayıt altına alındı. Pten değerleri immunohistokimyasal ve qRT-PCR yöntemi ile değerlendirildi.

Bulgular: Immunohistokimyasal olarak elde edilen H-skor değerleri kontrol grubu ile hasta grupları arasında karşılaştırdığımızda H skor değerleri FIGO grade ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde; PTEN, kontrol grubu H-skor değerleri tüm hasta gruplarına göre istatistiksel olarak yüksekti. Hasta grupları kendi arasında değerlendirildiğinde; Grade 1 hasta grubunda H-skor değeri Grade 3 e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. bize tip 2 endometrial kanserlerde PTEN ekspresyonunun grade derecesi ile korelasyon halinde olduğunu göstermiştir. PTEN ekspresyon değerlerini qRT-PCR yöntemi ile değerlendirildiğimizde ettiğimiz sonuçlar birbirini destekler nitelikteydi.

Sonuç: Sonuç olarak PTEN gen ifadesinin erken yaş tip 2 endometrial karsinogenezinde de tip 1 endometrial kanserler gibi rol oynayabildiği kanaatindeyiz.

Comparison Of Pten Expression With Prognostic Factors In Endometrial Cancer

Mesut Can¹, Nazlı Karagöz Can², Yusuf Kurtulmuş¹

¹Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry. Intellectual.

²Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology. Muğla.

Objective:: Endometrial cancer is nowadays the fourth most common cancer among women. Endometrial carcinomas as being the most common malignant tumors of the female genital system, while estrogen-dependent in 80-85% of cases, but not dependent in 10-15% of cases. Endometrial carcinomas are divided into two groups as type I and type II. Type I endometrial carcinomas are seen in a group of young patients aged 40-60 years with a history of anovulation or estrogen replacement therapy. If type II endometrial carcinomas are aggressive tumors that are not associated with hyperplasia and excess estrogen. Tumor suppressor gene PTEN as being located in the long arm (q) of chromosome 10 at position 23. PTEN has been shown to be suppressor in tumor growth and inhibitory role in development and metastasis.

Materials-Methods: In our study, we formed two groups. Control group: a control group consisting of people who were not diagnosed with early age type 2 endometrial cancer and a group of patients diagnosed with early age non-estrogen-dependent type 2 endometrial cancer. Patient age, CEA, p53, myometrial invasion, lymphovascular invasion and cervical invasion values were recorded in the hospital archive. Pten values were evaluated by immunohistochemistry and qRT-PCR method.

Results: Immunohistochemically obtained H-score values were compared between the control group and patient groups by comparing the H score values with FIGO PTEN, control group H-score values were statistically higher than all patient groups. When the patient groups were evaluated among themselves; The H-score was significantly higher in the Grade 1 patient group than Grade 3. showed that PTEN expression correlated with grade in type 2 endometrial cancers. When we evaluated PTEN expression values with qRT-PCR method, our results were in support of each other.

Conclusion: In conclusion, PTEN gene expression may play a role in type 2 endometrial carcinogenesis as well as type 1 endometrial cancers.



SS – 59 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Hücre Hattı Kaynaklı Mesane Kanseri Organoid Modeli: Moleküler ve Histolojik Karakterizasyon

Özden Öz¹, Evin İşcan², Mehmet Öztürk³

¹İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye 2 Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye 3 Bergama Necla-Mithat Öztüre Devlet Hastanesi, İzmir, Türkiye

²İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye 2 Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye

³İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

Mesane kanseri dünyada ve ülkemizde 4. sıklıkta rastlanan, %35-40 oranında ise ölümlü sonuçlanan bir kanser türüdür. Mesane kanserleri, mesane kas tabakası tutulumu ve gelişme şekline göre düşük dereceli ve yüksek dereceli olmak üzere iki ana grup altında değerlendirilmektedir. Hastanın tanı anında hangi gruba ait olduğunu belirlemek hastalığın tedavi şeklini belirlemek açısından çok önemlidir. Mevcut tedavi yöntemleri pahalı olmanın yanında sınırlı etkiye sahiptir. Diğer yandan, bu kanserlerde hedefe özgün tedaviler henüz belirgin bir başarı elde edememişlerdir. Sonuç olarak mesane kanserlerinin tanı ve tedavisi için yeni yöntem ve araçlara gerek duyulmaktadır. Araştırmalarımızın amacı gereksinim duyulan alanlarda model olarak kullanılmak üzere tümör organoidleri (tümöröidleri) geliştirmektir. Hasta tümörlerinden, tümöröid eldesi konusunda yeni gelişmeler olmakla birlikte, birçok araştırma merkezinde hasta materyaline ulaşmak zor veya imkansızdır. Bu nedenle tümöröid modelimizi hücre hatları kullanarak geliştirme yolunu tercih ettik. Araştırmalarımıza normal mesane ve papilloma-türevi iki benign hücre hattı yanında beş mesane kanseri-türevi hücre hattı kullandık. Üç boyutlu olarak Matrigel içinde oluşturulan organoidlerin çoğalma şekilleri, doku-benzeri organizasyon biçimleri, mesane biyobelirteçlerini ifade ediş biçimleri gibi parametreler farklı koşullarda incelendi. Çalışmalarımız test edilen tüm hücre hatlarının organoid oluşturma kapasitesine sahip olduklarını gösterdi. Sadece aşırı derecede farklılaşmış bir hücre hattının çok hızlı çoğaldığı ve düzgün organoidler oluşturamadığı gözlemlendi. Geliştirilen modelin karakterizasyon sonuçları sunulacaktır

Cell Line Originated Bladder Cancer Organoid Model: Molecular and Histological Characterization

Özden Öz¹, Evin İşcan², Mehmet Öztürk³

¹İzmir Biomedicine and the Genome Center, İzmir, Turkey 2 Dokuz Eylül University, İzmir International Biomedicine and Genome Institute, İzmir, Turkey 3 Bergama Necla-Mithat Öztüre State Hospital, İzmir, Turkey

²İzmir Biomedicine and the Genome Center, İzmir, Turkey 2 Dokuz Eylül University, İzmir International Biomedicine and Genome Institute, İzmir, Turkey

³İzmir Biomedicine and the Genome Center, İzmir, Turkey

Bladder cancer is the 4th most common cancer in the world and in our country, and 35-40% of the cases are fatal. Bladder cancers are classified into two main groups as low-grade and high-grade according to bladder muscle layer invasion and development. In order to determine the type of treatment of the disease, it is very important to know which group the patient belongs to at the beginning time of diagnosis. Existing treatment methods have limited effect as well as being expensive. On the other hand, there is no success in target-specific treatments for the bladder cancer. As a result, new methods and tools are needed for the diagnosis and treatment of bladder cancer. The aim of our research is to develop tumor organoid (tumoroids) to be used as a model in the required fields. Although there are new developments in obtaining tumoroid from patient tumors, it is difficult or impossible to reach patient material in many research centers. Therefore, we preferred to develop our tumoroid model using cell lines. In our research, we used two benign normal bladder- and papiloma-derived cell lines and five bladder cancer-derived cell lines. The growth patterns of organoids formed in three-dimensional Matrigel, tissue-like organization forms, and the expression of specific bladder biomarkers were examined under different conditions. Our studies showed that all cell lines tested were capable of forming an organoid. It was observed that only an extremely poor differentiated cell line proliferated very rapidly, could not form proper organoids. Characterization results of the developed model will be presented.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 60 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Meme kanseri tedavisi için yeni bir terapötik strateji: Transforming Acidic Coiled-Coil Containing Protein 3'ü hedeflemek

Özge Akbulut¹, Deniz Lengerli², Özge Saatci³, Elif Duman Ergül⁴, Urartu Özgür Şafak Şeker⁴, Burcu Çalışkan², Erden Banoğlu², Özgür Şahin¹

¹Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Fakültesi, Bilkent Üniversitesi, Ankara, Türkiye

²Farmasötikal Kimya Bölümü, Eczacılık Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye

³İlaç Keşif ve Biyomedikal Bilimler Bölümü, Güney Karolina Üniversitesi, Kolombiya, SC, ABD

⁴UNAM-Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi, Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Enstitüsü, Bilkent Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Amaç:TACC3, iğ iplikçığı birleşiminin (spindle assembly) önemli bir mitotik parçası olmakla beraber kromozomların düzgün ayrılmasını ve mikrotübüllerin stabilitesini sağlamaktadır. Farklı kanserlerde anormal ifadenmesi TACC3'ü terapötik açıdan çekici hale getirmiştir. Dolayısıyla, bu çalışmayla kanser tedavisinde mitoz-önleyici olarak kullanılabilecek ve kliniğe uyarlanma potansiyeli olan özgün ve etkili bir TACC3 inhibitörü geliştirmeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem:Laboratuvar koşullarında yapılan tarama ve rasyonel ilaç dizayn yaklaşımlarının birleşimiyle TACC3'ü hedefleyen yeni bir kemotip belirledik. İnhibitör-TACC3 etkileşimini hedef bağlanma yöntemi (CETSA), ilaç-eğilim duyarlı hedef dengesi yöntemi (DARTS) ve izotermal titrasyon kalorimetrisi (ITC) ile doğruladık. İnhibitörün hücre canlılığı üzerine olan etkisini NCI-60 kanser panelinde test ettik. Western blot ve konfokal mikroskop deneyleriyle inhibitörün mitoz ve apoptoz üzerindeki etkinliğini gösterdik. Ayrıca, özgün TACC3 inhibitörünün tümör büyümesi ve hayatta kalım süresine olan etkisini xenograflar ve sinjenik fareler kullanarak test ettik.

Bulgular:BO-264, TACC3'ü hedefleyerek mitotik tutulma, DNA hasarı ve apoptoz gibi yolaklar aracılığıyla hücre canlılığı üzerinde bilinen TACC3 inhibitörlerine kıyasla daha düşük dozlarda çok daha üstün etki göstermiştir. Benzer şekilde, NCI-60 kanser hücre hatları kullanılarak yapılan hücre canlılığı testlerinde BO-264 nanomolar seviyede etki gösterirken normal hücreleri etkilememiştir. Ayrıca, BO-264'ün oral kullanımı immünokompetan ve immünitesi zayıflamış meme kanseri xenograflarında tümör büyümesini baskılamış ve hayatta kalım süresini arttırmıştır.

Sonuç:BO-264'ün kanser alt tipi ve doku ayırt etmeksizin yüksek tesir ve minimum toksisite göstermesi, bu molekülün genel bir mitotik ajan ve özgün bir TACC3 inhibitörü olarak sadece meme kanserinde değil, diğer kanser türlerinin tedavisinde de kullanılabileceğine işaret etmektedir.

A new therapeutic strategy for breast cancer treatment: Targeting Transforming Acidic Coiled-Coil Containing Protein 3

Özge Akbulut¹, Deniz Lengerli², Özge Saatci³, Elif Duman Ergül⁴, Urartu Özgür Şafak Şeker⁴, Burcu Çalışkan², Erden Banoğlu², Özgür Şahin¹

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Bilkent University, Ankara, Turkey

²Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Gazi University, Ankara, Turkey

³Department of Drug Discovery and Biomedical Sciences, University of South Carolina, Columbia, SC, USA

⁴UNAM-National Nanotechnology Research Center, Institute of Material Science and Nanotechnology, Bilkent University, Ankara, Turkey

Objective:TACC3, an important mitotic component of spindle assembly, ensures chromosomal segregation and microtubule stability. Aberrant expression patterns in different cancers make TACC3 an attractive target. Therefore, we aimed at identifying a novel and potent TACC3 inhibitor with translational potential to be used as mitotic blocker in cancer treatment.

Materials-Methods:Combining in-house screening and rational drug design approaches, we identified a new chemotype targeting TACC3. Inhibitor-TACC3 binding was validated through target engagement assay, drug affinity responsive target stability and isothermal titration calorimetry methods. The effect of inhibitor on cell viability was tested in NCI-60 cancer panel. Western blot and confocal microscopy experiments showed its efficacy on mitosis and apoptosis. Finally, the effect of novel TACC3 inhibitor on tumor growth and survival was tested using xenografts and syngeneic mice.

Results:BO-264 was identified as the most potent compound targeting TACC3 and showing superior effects compared to two available TACC3 inhibitors in inducing mitotic arrest, DNA damage and apoptosis. It inhibited the growth of cell lines at nanomolar doses in NCI-60 cancer cell line panel while it does not affect non-cancerous cells. Importantly, oral administration of BO-264 significantly suppressed the tumor growth and increased the survival in immunocompromised and immunocompetent mice.

Conclusion:Our preclinical studies showing high potency independent from subtype and tissue and minimum toxicity of BO-264 highlight its potential use as a mitotic blocker and a novel TACC3 inhibitor not only in breast cancer, but also in other cancers



SS – 61 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Propolis flavanoidi kaempferol hormon-pozitif MCF-7 meme kanseri hücre hattında apoptotik kaynaklı sitotoksik etki gösteriyor

Özlem Kumaz Gömleksiz

Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Propolisin antikanserojenik etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Antikanser etkisi özellikle zengin flavonoid içeriğine atfedilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda, propolisin fenolik maddelerinden kaempferolün Luminal A tip meme kanserini modelleyen MCF-7 hücre hattında sitotoksik ve apoptotik etkilerini in vitro koşullarda araştırmayı hedefledik.

Gereç-Yöntem: MCF-7 ve MCF10-A hatlarında Kaempferol'ün zaman (24., 48. ve 72. Saatlerde) ve doz (0,02µg/ml- 50µg/ml) bağımlı sitotoksik etkisi WST-1 tekniğiyle, sitotoksik etkinin apoptozla ilişkisi Flow-sitometri Aneksin-V/PI tekniğiyle incelenmiştir. Sitotoksitenin kontrollere göre kıyaslanması One-way ANOVA testi ve Dunnet's multiple comparison testiyle analiz edilmiştir. İstatistik analiz için GraphPad Prism-6 programı kullanıldı.

Bulgular: MCF-7 hücrelerinde 24.saatte 0,02-0,04-1-2,5-5-10-20-30-40-50µg/ml, 48.saatte 20µg/ml, 72.saatte ise 40µg/ml kaempferol dozları hücre canlılığında yaklaşık olarak %50 azalmaya neden olmuştur ($p<0,0001$). MCF-10A hücrelerinde 24.saatte 20µg/ml kaempferol ($p<0,0001$), 48.saatte 30µg/ml kaempferol ($p<0,0001$), 72.saatte 40µg/ml kaempferol dozu hücre canlılığında yaklaşık olarak %50 azalmaya neden olmuştur ($p<0,0001$).

MCF-7 hücrelerinde 1-5-30µg/ml kaempferol dozlarının sırasıyla 24.saatte %22,06, %12,92 ve %30,63, 48.saatte %8,35, %22,65 ve %18,95 ve 72.saatte %13,76, %16,65 ve %44,65 oranında apoptoza neden olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Literatürde 35µM ve 70µM kaempferolün MCF-7 hücrelerinde 48.saatte büyümeyi %50 inhibe ettiği ve yüksek konsantrasyondaki (50µM) kaempferolün apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Çalışmamızda MCF-7 hücrelerinde 48.saatte 20µg/ml, 72.saatte ise 40µg/ml kaempferolün hücre canlılığını %50 azalttığı ve uygulanan 30µg/ml kaempferol dozunun 24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla %30,63, %18,95, %44,65 oranında apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Literatürdeki çalışmalarla uyumlu olan sonuçlarımız kaempferolün doz ve zamana bağlı olarak hormon-pozitif MCF-7 hücre hattında apoptoz kaynaklı sitotoksik etki gösterdiğine işaret etmektedir.

Meme kanseri hormon pozitif MCF-7 hücre hattında kaempferolün sitotoksik etki gösterdiği, sitotoksik etkinin apoptoz kaynaklı olduğu ve bu apoptotik etkinin zamana bağlı doz ile arttığı izlenimi elde edilmiştir.

Kaempferol, a flavonoid compound of propolis reveals cytotoxicity by inducing apoptosis in hormone-positive MCF-7 breast cancer cell

Özlem Kumaz Gömleksiz

Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Altınbaş University, Istanbul, Turkey

Objective: Propolis has anti-cancer effect. The anti-cancer effect is thought to be caused by flavonoids. We aimed to investigate the cytotoxic and apoptotic effects of kaempferol, one of the phenolic compounds of propolis, in Luminal A type MCF-7 breast cancer cell line in vitro.

Materials-Methods: Time-dependent and cytotoxic effects of different doses of Kaempferol(0.02µg/ml-50µg/ml) at 24th, 48th, and 72nd hours in MCF-7 and MCF10-A were investigated by WST-1 and apoptosis was determined by the Flow-Cytometry Annexin-V/PI techniques. Comparison of cytotoxicity to controls was analyzed by One-way ANOVA test and Dunnet's multiple comparison test. GraphPad Prism 6 program was used.

Results: In MCF-7 cells, 0.02-0,04-1-2,5-5-10-20-30-40-50µg/ml kaempferol at 24thh, 20µg/ml at 48thh, and 40µg/ml at 72nd hours caused approximately 50% reduction in cell viability ($p<0.0001$). 20µg/ml Kaempferol at 24thh($p<0.0001$),30µg/ml Kaempferol at 48th h ($p<0.0001$),and 40µg/ml Kaempferol at 72nd h resulted in approximately 50% reduction in cell viability ($p<0.0001$) in MCF-10A.

1-5-30µg/ml Kaempferol induced apoptosis in a rate of 22.06%,12.92%, and 30.63% at 24th h, 8.35%, 22.65%,and 18.95 at 48th h, 13.76%, 16.65%, and 44.65% at 72nd h in MCF-7,respectively.

Conclusion: It was shown that 35µM and 70µM kaempferol inhibited growth of MCF-7 cells by 50% at 48th h and kaempferol at high concentration (50µM) induced apoptosis in the literature. In our study, the dose of 20µg/ml at 48th h and the dose of 40µg/ml at 72th h reduced cell viability by 50% and 30µg/ml kaempferol caused by 30.63%, 18.95%,and 44.65% of apoptosis at the 24th, 48th,and 72th hours in hormone-positive MCF-7, respectively. Our results were consistent with the literature.

Kaempferol showed cytotoxic effect in MCF-7 cell line, cytotoxic effect was apoptosis induced and this apoptotic effect increased with time-dependent dose.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 28304



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 62 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Lösemiler ve NF1 ile İlişkili Tümörlerde *EVI2B* Genlerinin Rolü

Parisa Sharafi¹, Şükriye Ayter¹, Banu Anlar², Ali Varan³, Mualla Çetin⁴

¹TOBB Ekonomi Ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Ana Bilim Dalı, Ankara/Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Nöroloji Ana Bilim Dalı, Ankara/Türkiye

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Pediatrik Onkoloji Bilim Dalı, Ankara/Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hematolojisi Ana Bilim Dalı, Ankara/Türkiye

Amaç: Otozomal dominant bir hastalık olan Nörofibromatozis tip 1 (NF1), *NF1* genindeki mutasyonlar nedeni ile ortaya çıkar. Hastalığın tipik belirtileri “café-au lait” lekeleri, çillenme, periferik sinir kılıfı tümörleri, diğer malignansiler ve lösemilere yatkınlıktır. *NF1* geni 61 ekzondan oluşmaktadır, intron 27b içinde *EVI2A*, *EVI2B* ve *OMGP* genleri yer alır ve ters yönde okunur. Viral entegrasyon bölgesi olan *EVI2B* geninin lösemilerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma *EVI2B*’nin NF1 ve NF1-lösemileri ile ilişkisini göstermek üzere planlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Bu amaç için 10 NF1, 20 Lösemi ve 3 NF1-Lösemi hastasının periferik kandan izole edilen DNA’ları PCR temelli tekniklerle analiz edildi. Akım sitometri ve kantitatif gerçek zamanlı PCR yöntemlerini kullanarak *EVI2B* proteinin miktarına ve gen ifadesine bakıldı.

Bulgular: *EVI2B* genleri için yapılan PCR ve agaroz jel görüntüleme sonucunda birden fazla ampikon saptandı. DNA dizi analizi sonucunda 455 bazlık bir entegrasyon tespit edildi. *EVI2B* proteinini ifade eden hücre yüzdesinin, sağlıklı bireylere göre dermal nörofibromlarda (DN) arttığı, pleksiform nörofibromlarda (PN) ise belirgin bir şekilde düştüğü gözlemlendi. *EVI2B* gen ifadesi ise hem DN hem PN’da yüksek bulundu. Ancak bu artış, DN’da daha belirgindi. Bunun nedeni entegrasyon gösteren varyant mRNA’ların proteine çevrilmesindeki hatalar olabilir. Böylece iki farklı çalışmanın sonuçları da birbirlerini destekler niteliktedir. *EVI2B* geninde saptanan entegre dizi HIV-1 virüsü genine %87 eşleşme göstermiştir.

Sonuç: Sonuç olarak *EVI2B* genindeki olası viral katılımlar NF1 kliniğinde değişikliklere neden olabilir ve NF1 tümörlerinin patogenezinde modifiye edici bir etki olarak değerlendirilebilir. Literatürde *EVI2B* geninin NF1 patogenezi ile ilişkili olabileceği vurgulanmakla birlikte bu konuda yapılmış bir çalışma mevcut değildir.

The Role of *EVI2B* in NF1 Tumors and Leukemia’s

Parisa Sharafi¹, Şükriye Ayter¹, Banu Anlar², Ali Varan³, Mualla Çetin⁴

¹TOBB University Of Economics And Technology, Faculty Of Medicine, Department Of Medical Biology And Genetic, Ankara/Turkey

²Hacettepe, School Of Medicine, Department Of Pediatrics, Pediatric Neurology, Ankara/Turkey

³Hacettepe University, School Of Medicine, Department Of Pediatrics, Pediatric Oncology, Ankara/Turkey

⁴Hacettepe University, Faculty Of Medicine, Department Of Hematology, Ankara/Turkey

Objective: Neurofibromatosis type 1 (NF1) is an autosomal dominant disease caused by mutations in *NF1* gene. Typical manifestations are café-au lait spots, freckling, peripheral nerve sheath tumors, and predisposition to malignancies including leukemia. *NF1* contains 61 exons and *EVI2A*, *EVI2B* and *OMGP* genes are exist in intron 27b, transcribed in the opposite direction. *EVI2B*, the viral integration site, is thought to be associated with leukemia, therefore we planned this study to search this relation.

Materials-Methods: For this purpose, DNAs isolated from peripheral blood of 10 NF1, 20 Leukemia and 3 NF1-Leukemia patients were analyzed by PCR based technics. Gene expression and amounts of *EVI2B* protein were analyzed using flow cytometry and qRT-PCR.

Results: As a result of PCR and agarose gel imaging for *EVI2B* multiple amplicons was revealed. DNA sequence analysis exhibited an integration of 455 bases. The percentage of cells expressing *EVI2B* protein increased in dermal neurofibromas (DN) and decreased significantly in plexiform neurofibromas (PN) compared to healthy individuals. *EVI2B* expression was high in both DN and PN, but more in DN. Thus, the results of two different studies support each other. This may be due to the variant mRNA which cause errors in their translation. The integrated sequences detected in *EVI2B* showed 87% match to HIV-1 virus gene.

Conclusion: In conclusion, possible viral involvement in *EVI2B* may cause changes in NF1 clinics and therefore can be considered as a modifying effect on the pathogenesis of NF1 tumors. In literature there is no study showing the relation of *EVI2B* and NF1 pathogenesis.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: 1002 - 117S960). This study was supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) (Project Numbers: 117S960).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 63 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Meme Kanserinde MYC Tarafından Regüle Edilen Mitokondriyal miRNA'ların (mitomiR) Araştırılması

Pervin Elvan Tokgün¹, Onur Tokgün¹, Ayşe Gaye Tomatır²

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Denizli

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli

Amaç: Mitokondriyal gen alterasyonları ve MYC dereglasyonu meme kanseri gelişimi ve progresyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple meme kanseri hücre hatlarında, karsinogenez sürecinde rol oynayabilme potansiyeline sahip MYC onkogeni tarafından regüle edilen mitokondriyal miRNA'ların (MitomiR) tanımlanması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: MCF-7 hücreleri lentiviral shRNA vektörü, MDA-MB-231 hücreleri ise lentiviral overekspresyon vektörü (pTIJ) ile infekte edildi ve puromisin ile seçim yapıldı. Lentiviral vektör doksisklin varlığında aktive edilerek etkinliği floresans mikroskopta tRFP yüzdeleri değerlendirilerek analiz edildi. MYC ifadesine bağlı olarak hem mitokondriyal genlerin hem de küçük kodlamayan RNA'ların ekspresyon değişimleri okuma sayıları göz önüne alınarak yeni nesil dizileme yöntemiyle analiz edildi. mitomiR'lerin ekspresyonları hem hücrelerde hem de meme kanseri tanısı almış hastalarda qRT-PZR yöntemi ile analiz edildi.

Bulgular: Küçük RNA dizileme analizi sonucunda MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde hsa-miR-4488, hsa-miR-1290, hsa-miR-3960, hsa-miR-4284, hsa-miR-1246, hsa-miR-4532' de MYC ifadesine bağlı olarak ekspresyon değişimi saptandı.

Tartışma: Literatürde gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda mitokondriyal proteinleri kodlayan pekçok nuklear genin MYC'in downstream hedefleri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile ilk defa MYC tarafından ifadeleri düzenlenen MitomiR'ler meme kanseri hücrelerinde tanımlanmıştır.

Sonuç: Elde edilen veriler, MYC tarafından ifadesi düzenlenen mitomiR'lerin meme kanseri gelişimi ve/veya progresyonunda rol oynayabileceği noktasında önemli bir katkı sağlamaktadır. Araştırmamızın ileriki aşamalarda planladığımız fonksiyonel çalışmalarla birlikte Mitokondri-MYC arasındaki etkileşimin aydınlatılabilmesi açısından önemli veriler sunacağına inanmaktayız.

Identification of MYC Regulated Mitochondrial miRNA's (mitomiR) in Breast Cancer

Pervin Elvan Tokgün¹, Onur Tokgün¹, Ayşe Gaye Tomatır²

¹Department of Medical Genetics, School of Medicine, Pamukkale University, Denizli/ TURKEY

²Department of Medical Biology, School of Medicine, Pamukkale University, Denizli/ TURKEY

Aim: Mitochondrial gene alterations and MYC deregulation play important roles in breast cancer development and progression. Therefore we aimed to identify MYC oncogene regulated mitochondrial miRNAs (mitomiR) that have potential roles in the carcinogenesis process in breast cancer cell lines.

Materials-Method: MCF-7 cells were infected with lentiviral shRNA vector whereas MDA-MB-231 cells were infected with lentiviral overexpression vector pTIJ and selected with puromycin. Lentiviral vector is activated with doxycycline and tRFP percentage is evaluated under fluorescence microscope. Both mitochondrial gene and mitochondrial miRNA expressions were evaluated by small RNA sequencing based on their number of reads. mitomiR expressions were checked with qRT-PCR in both cells and breast cancer patients.

Findings: Small RNA RNA sequencing results revealed that there were significant expression changes in hsa-miR-4488, hsa-miR-1290, hsa-miR-3960, hsa-miR-4284, hsa-miR-1246, hsa-miR-4532 depending on MYC expression in MCF-7 and MDA-MB-231 cells.

Discussion: In literature it was shown that several nuclear genes encoding mitochondrial proteins are the downstream targets of MYC. Our study is the first identifying MYC regulated mitomiRs.

Results: Our data have important contribution about revealing the role of MYC regulated mitomiRs in breast cancer development/progression. With the functional studies we believe that we can represent important data in order to enlight the interaction between Mitochondria and MYC.

Çalışmamız Pamukkale Üniversitesi BAP 2014-SBE-011 ve 2013-SBE-012 nolu projeler tarafından desteklenmiştir.



SS – 64 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

**Türk Popülasyonunda Ailesel Adenomatöz
Polipozis Hastalarının Moleküler Analizi: İki
Novel APC Mutasyonu, İki Rekürren
MUTYH Mutasyonu ve Fenotip-Genotip
İlişkisi**

Pınar Gültepe¹, Esra Arslan Ateş², Özlem Yıldırım³,
Ahmet İlder Güney⁴

¹Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı, İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler
Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim
Dalı, İstanbul, Türkiye

Ailesel adenomatöz polipozis (FAP) kolorektal kanserlerin %3'ünden sorumlu kolonda yüzlerce premalign polipe karakterize nadir bir kanser sendromudur. FAP hastalarının % 70-90'ından otozomal dominant kalıtım gösteren APC gen mutasyonları sorumludur. Kolonda 100'den az sayıda polipe karakterize formu AFAP (Atenu Familial Adenomatous Polyposis) ve hastaların yaklaşık %10'ununda saptanan biallelik MUTYH gen mutasyonlarının sebep olduğu formu MAP (MUTYH-Associated Polyposis) olarak adlandırılmaktadır. Bu çalışmada Marmara Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Polikliniği'ne FAP tanısıyla yönlendirilen hastaların klinik ve moleküler genetik özelliklerinin tartışılması amaçlanmıştır. Polikliniğimize FAP ön tanısıyla yönlendirilen 21 aileden 24 olgu klinik olarak incelenmiş, APC ve MUTYH genlerinin tüm ekzon ve komşuluğundaki intron dizileri yeni nesil dizi analizi yöntemiyle değerlendirilmiştir. Değerlendirilen 21 probandın 2'sinde (%9) iki farklı novel APC mutasyonu (p.Leu1489Phefs*23 ve p.Leu360*) heterozigot olarak saptanmıştır. İki ailede dominant kalıtım özelliği belirgin olmakla birlikte yalnızca bir olguda segregasyon analizi yapmak mümkün olmuş ve klinikle uyumlu olduğu belirlenmiştir. Dört probandda ise biallelik iki farklı MUTYH mutasyonu (% 19) saptanmıştır. Anne-babası arasında akraba evliliği olan iki probandda c.884C>T (p.Pro295Leu), bir probandda c.1437_1439delGGA (p.Glu480del) mutasyonları homozigot; bir olguda ise c.1437_1439delGGA (p.Glu480del) ve heterozigot c.884C>T (p.Pro295Leu) mutasyonları birleşik heterozigot olarak saptanmıştır. MUTYH'de saptadığımız mutasyonların tamamı tanımlı mutasyonlar olmakla birlikte Türk hastalarda ilk kez rapor edildi. Bu çalışmada MUTYH mutasyon sıklığı literatürdeki çalışmaların aksine APC mutasyonundan yüksektir. Bu durum ülkemizde akraba evliliklerinin daha yaygın olması ve anne-babanın sağlıklı olmasının çocuk sahibi olma tercihlerini etkileyebilir olmasıyla ilişkili olabilir. Bu çalışmanın, saptanmış iki novel mutasyon ve Türk popülasyonunda yapılan nadir çalışmalardan olması dolayısıyla literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Molecular Analysis of Familial Adenomatous
Polyposis Patients in Turkish Population: Two
Novel APC Mutations, Two Recurrent
MUTYH Mutations and Phenotype-Genotype
Relationship**

Pınar Gültepe¹, Esra Arslan Ateş², Özlem Yıldırım³,
Ahmet İlder Güney⁴

¹Department of Medical Biology, School of Medicine, Marmara
University, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Genetics, Marmara University Pendik
Education and Research Hospital, Istanbul, Turkey

³Department of Molecular Biology and Genetics, Institute of
Science, Istanbul University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Medical Genetics, School of Medicine, Marmara
University, Istanbul, Turkey

Familial adenomatous polyposis (FAP) is a rare cancer syndrome characterized by hundreds of premalignant polyps in the colon responsible for 3% of colorectal cancers. APC gene mutations with autosomal dominant inheritance are responsible for 70-90% of FAP patients. The form characterized by fewer than 100 polyps in the colon is called AFAP (Atenu Familial Adenomatous Polyposis) and the form caused by mutations of biallelic MUTYH gene detected in approximately 10% of patients is called MAP (MUTYH-Associated Polyposis). In this study, we aimed to discuss the clinical and molecular genetic characteristics of patients referred to Marmara University Hospital Medical Genetics Clinic with the diagnosis of FAP. Twenty-four patients from 21 families who were referred to our polyclinic with a pre-diagnosis of FAP were evaluated clinically, and all the exonic and intronic sequences of APC and MUTYH genes were evaluated by the next generation sequencing method. Two different novel heterozygous APC mutations (p.Leu1489Phefs * 23 and p.Leu360 *) were detected in 2 of the 21 probands (9%). Although dominant inheritance was evident in two families, only one case was able to be performed segregation analysis and was found to be clinically compatible. In four probands, two different biallelic mutations of MUTYH were detected (19%). C.884C>T (p.Pro295Leu) in two probands with consanguineous marriage between parents; c.1437_1439delGGA (p.Glu480del) homozygous mutations in one proband; in one case, c.1437_1439delGGA (p.Glu480del) and heterozygous c.884C>T (p.Pro295Leu) mutations were identified as combined heterozygote. Although all of the mutations we detected in MUTYH were defined mutations, they were reported for the first time in Turkish patients. In this study, the incidence of MUTYH mutation was higher than APC mutation in contrast to the literature. It is thought that this study will contribute to the literature as it is one of the few novel mutations identified and rare studies conducted in Turkish population.



SS – 65 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Lösemi hücrelerinde düşük glukoz konsantrasyonunun STAT3 aktivitesine etkisi

Saniye Ada¹, Sedef Altundağ Kara², Mustafa Baki Çekmen¹, Burcu Yücel²

¹*İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İSTANBUL*

²*İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL*

Amaç: Lösemi, öncül kan hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ile karakterize hematopoetik sistem kanserlerinden biridir. STAT3'ün malign transformasyonun başlangıcında ve kanser progresyonunda önemli bir yeri olduğu lösemilerde ve diğer farklı kanserlerde gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda STAT3'ün onkogenik aktivitesinin yanında hücre metabolizmasının düzenlenmesinde de rolü olabileceği önerilmektedir. Bu çalışmadaki amacımız, lösemi hücrelerinde düşük glukozlu ortamda stat3 aktivitesinde değişim olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: K562, NB-4 ve HL-60 lösemi hücre hatları düşük glikozlu (1 mM) ve yüksek glukozlu (10 mM) besiyerinde 72 saat çoğaltıldılar. Süre sonunda hücrelerin; hücre çoğalması, hücre canlılığı ve glikoz tüketimleri belirlendi. STAT3 mRNA ekspresyonları qRT-PCR ile kontrol edildi. Ayrıca, üç hücre hattında 1mM glukozlu ortamda STAT3 protein seviyesi ve STAT3 aktivitesi (Ser 727 ve Tyr 705 fosforilasyonu) değişimi, total hücrede, nukleus ve mitokondriyal protein fraksiyonlarında western blot metodu ile kontrol edildi.

Bulgular: 10mM glukozlu ortama kıyasla 1 mM glukozlu ortamda STAT3 mRNA ekspresyonu K562 ve HL-60 hücre hattında anlamlı olarak azaldı (p <0.005). STAT3 protein seviyeleri ise K562 ve NB-4 hücrelerinde azalırken HL-60' da değişmedi. STAT3 aktivitesi (Ser 727 ve Tyr 705 fosforilasyonu) ise her üç hücre hattında azalmaktadır. STAT3 ve fosfoSTAT3 mitokondriyal protein fraksiyonlarında görülmedi. Nuklear fraksiyonlarında ise HL-60 hücrelerinde düşük glukozlu ortamda STAT3 proteini nukleusta artarken, sitozolde azalmaktadır.

Sonuç: Sonuçlarımız, glukoz metabolizmasının hedeflenmesinin STAT3'ün ekspresyonunu azaltabileceğini ve glukoz metabolizmasının lösemi tedavisinde bir hedef olabileceğini göstermektedir. Destekler: TÜBİTAK 217S792, İMU-BAP T-GAP-2017-1109

The effect of low glucose concentration on STAT3 activity in leukemia cells

Saniye Ada¹, Sedef Altundağ Kara², Mustafa Baki Çekmen¹, Burcu Yücel²

¹*İstanbul Medeniyet University, Medical Faculty, Department of Medical Biochemistry, Istanbul*

²*İstanbul Medeniyet University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Istanbul*

Objective: Leukemia is a cancer of the hematopoietic system characterized by uncontrolled proliferation of precursor blood cells. STAT3 has an important role in the onset of malignant transformation and progression in leukemia and other cancers. This study aimed to investigate whether there is a change in stat3 activity in leukemia cells in low glucose environment.

Materials-Methods: K562, NB-4 and HL-60 leukemia cell lines were grown for 72 hours in low glucose (1 mM) and high glucose (10 mM) media. Cell proliferation, cell viability and glucose consumption were determined. STAT3 mRNA expression was controlled with qRT-PCR. In addition, the change of STAT3 protein level and STAT3 activity (Ser 727 and Tyr 705 phosphorylation) in 1mM glucose medium was controlled by western blotting.

Results: STAT3 mRNA expression was significantly decreased in K562 and HL-60 cell line in 1 mM glucose medium compared to 10mM glucose medium (p <0.005). STAT3 protein levels decreased in K562 and NB-4 cells but did not change in HL-60. STAT3 activity decreased in all three cell lines. STAT3 and phosphoSTAT3 were not observed in mitochondria. In nuclear protein fractions, STAT3 increases in nucleus and decreases in cytosol in HL-60 cells in low-glucose medium.

Conclusion: Our results suggest that targeting glucose metabolism may reduce the expression of STAT3 activity. Funding; TUBITAK 217S792, İMU-BAP T-GAP-2017-1109



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 66 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

MACC1, NM-23H1, MALAT1 ve PTENP1 Belirteçleri Kullanılarak Adjuvan Tedaviye Yönlendirilecek Kolon Tümörlerinin Tedaviye Verecekleri Cevabın İlaç Direnç Modelinde Gösterilmesi

Secil Ak Aksoy, Berrin Tunca, Melis Mutlu, Gülsah
Cecener, Unal Egeli

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Erken evre kolon kanserlerinin (eKK) tedavisinde, 5FU-
tabanlı adjuvan tedavinin yeri tartışma konusudur. Bunun
temel sebebi eKK'ların birçoğunun tedavisinde
rezeksiyon yeterli olurken hastaların %15-25'inde takip
süresi içerisinde uzak organ metastazının (nüks)
gelişebilmesidir. Önceki çalışmalarımızda, eKK'larda
gelişecek nüksi, tanı anında saptayabilmek için
kullanılacak belirteçlerin tanımlanması amaçlanmıştır. Bu
kapsamda eKK'larda rezeksiyondan sonra oluşan nüks
oranı tespit edilmiş ve bu süreçte etkili olabilecek
patolojik, klinik ve moleküler parametreler incelenmiştir.
Elde edilen sonuçlar, tümör
tomurcuklanmasının, *MACC1* ve *NM23-H1* ve kodlama
yapmayan uzun RNA'lardan *MALAT1* ve *PTENP1*
ekspresyonlarındaki düzensizliklerinin bu tümörler için
güçlü birer belirteç adayı olabileceklerini göstermektedir.
Önceki çalışmalar ile elde edilen bu sonuçlar
doğrultusunda yeni çalışmamızda, bu belirteçler yardımı
ile hastalara adjuvan tedavi uygulanması durumunda,
hastaların tedaviye verecekleri yanıtı belirleyebilmek için
ilaç direnç modeli oluşturarak, biyobelirteç adaylarının
ilaç direncine olası katkılarının incelenmesi
amaçlanmaktadır.

HT-29 KK hücre hattına 6 ay boyunca artan dozlarda
5FU verilerek ilaca dirençli HT-29FUR hücreleri
oluşturuldu. Hücrelerde 5FU direnci, hücre proliferasyon
(WST-1), apoptoz (Annexin V) ve yaşlanma
(Senescence) testleri ile gösterildi. İlaç direnç gelişimi ve
metastaz arasındaki olası sinerji, fonksiyonel analizler
(yara iyileştirmesi ve koloni oluşumu) ile incelendi.
Direnç oluşum sürecinde, RT-PCR yöntemi kullanılarak,
MALAT1, *PTENP1*, *MACC1*, *NM23-H1* ekspresyonları,
Epitelya-mezenkimal-transizyon (EMT) mekanizması
analiz edildi.

5FU direnci oluşum sırasında, *MACC1* ve *NM23-
H1* ekspresyonlarında bir değişim saptanmadı. HT-29 ile
karşılaştırıldığında, *MALAT1* ekspresyonu direnç
kazanım sürecinin ilk aşamalarından itibaren arttı,
PTENP1 ekspresyonunun direnç oluşumunun son doz
artışında azaldığı belirlendi (sırasıyla $p=0.008$, $p=0.011$).
Korelasyon testi ile, *MALAT1*'in yüksek E-kaderin'in
düşük ekspresyonlarının, *PTENP1* kaybı ile Snail'in
yüksek ekspresyonlarının arasında istatistiksel olarak
anlamlı korelasyon bulunması nedeniyle bu iki
LncRNA'nın EMT mekanizması üzerinden ilaç direncine
neden oldukları belirlendi. Bununla birlikte
eKK'larda *MACC1* ve *NM23-H1* ekspresyon değişimleri

belirlenen tümörlerde nüks potansiyeli yüksek olduğunda
adjuvan tedavinin önerilmesi, *MALAT1*, *PTENP1*
ekspresyon değişimleri belirlenen, nüks potansiyeli
yüksek eKK'da ise yeni tedavi protokollerine ihtiyaç
duyulduğu belirlenmiştir.

Demonstration of the Response of Colon Tumors to Adjuvant Therapy Using *MACC1*, *NM-23H1*, *MALAT1* and *PTENP1* Markers in the Drug Resistance Model

Secil Ak Aksoy, Berrin Tunca, Melis Mutlu, Gülsah
Cecener, Unal Egeli

*Uludağ University Medical Faculty Department of Medical
Biology*

The role of 5FU-based adjuvant therapy in the treatment
of early stage colon cancers (eCC) is controversial. The
main reason for this is that resection is sufficient in the
treatment of most of the eCC, whereas distant organ
metastasis may develop in 15-25% of the patients during
the follow-up period. In our previous studies, it was
aimed to identify the markers to be used to detect
recurrence in eCC at the time of diagnosis. The results
show that tumor budding, dysregulation of *MALAT1*,
PTENP1, *MACC1* and *NM23-H1* expressions may be
strong marker candidates for these tumors. In these
results obtained from previous studies, our aim is to
investigate the possible contribution of biomarker
candidates to drug resistance by establishing a drug
resistance model in order to determine the response of
patients to adjuvant therapy with the help of these
markers.

Drug-resistant HT-29FUR cells were formed by
increasing doses of 5FU to HT-29 CC cell line for 6
months. 5FU resistance in cells was demonstrated by cell
proliferation (WST-1), apoptosis (Annexin V) and
senescence tests. The possible synergy between drug
resistance development and metastasis was examined by
functional analysis (wound healing and colony
formation). Expression of *MALAT1*,
PTENP1, *MACC1*, *NM23-H1*, and EMT were analyzed
by RT-PCR method during resistance formation process.
Compared with HT-29, it was determined that *MALAT1*
expression increased from the first stages of the
resistance gaining process and *PTENP1* expression
decreased at the last dose increase of resistance formation
($p=0.008$, $p=0.011$).

We suggest adjuvant treatment in patients with high
recurrence potential in tumors with *MACC1* and *NM23-
H1*. However, *MALAT1*, *PTENP1* expression changes in
eCC, it was determined that new treatment protocols are
needed in eCC where expression changes are determined
and recurrence potential is high.



SS – 68 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Meme Kanserinde Krill Yağının Olası Antiproliferatif ve Apoptotik Etkileri

Sevcan Kutlu¹, Özlem Bingöl Özakpınar², Merve Duracık², Turgut Şekerler², Derya Özsavcı²

¹Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul; ²İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul;

³Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Çalışmamızda meme kanseri alt türlerinde, besin takviyesi olarak kullanılan krill yağının *in vitro* hücre sinyal yolları, hücre proliferasyonu ve apoptozuna olan etkileri incelenerek, meme kanseri tedavisine yeni bir yaklaşım kazandırmak hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem: Krill yağının hücre proliferasyonuna olan etkisi, MCF-7 (östrojen pozitif) hücre hattı kullanılarak, MTT yöntemi ile belirlenmiştir. MDA-MB-231 (üçlü negatif) hücre hattında ise krill yağının hücre apoptozuna olan etkisini belirlemek amacıyla kit prosedürüne uygun olarak apoptoz ileri yolak enzimleri olan kaspaz 3, kaspaz 8 ve kaspaz 9 ekspresyonları spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir.

Bulgular: Yapılan çalışmalar sonucunda Krill yağıyla muamele edilen MCF-7 hücrelerinde, krill yağının hücre proliferasyonunu kontrol grubuna göre yüksek derecede inhibe ettiği gözlemlenmiştir (%99,57). Apoptoz sonuçlarına göre, krill yağının MDA-MB-231 hücre hattında kaspaz 3 ve 9 seviyelerini anlamlı bir şekilde arttırdığı bulunmuşken ($P < 0.05$), kaspaz 8 seviyesinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Sonuç: Jayathilake ve arkadaşlarının kolorektal kanser hücrelerinde yaptığı çalışmada, krill yağının proliferasyonu baskılayarak apoptosisi başlattığı belirtilmiştir. Paralel olarak çalışmamızda krill yağının MCF-7 hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği, MDA-MB-231 hücrelerinde ise apoptozu artırdığı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız krill yağının östrojen pozitif hücre hatlarında proliferasyonu baskıladığı, östrojen negatif hücre hatlarında ise apoptozu artırdığı görülmüş olup, meme kanseri tedavisine yönelik yeni bir araştırma alanına ışık tutacağı kanısındayız.

Potential Antiproliferative and Apoptotic Effects of Krill Oil In Breast Cancer

Sevcan Kutlu¹, Özlem Bingöl Özakpınar², Merve Duracık², Turgut Şekerler², Derya Özsavcı²

¹Department of Biochemistry, Marmara University Faculty of Pharmacy, İstanbul; ²Department of Pathology, İstinye University Faculty of Medicine, İstanbul;

³Department of Biochemistry, Marmara University Faculty of Pharmacy, İstanbul

Objective: In our study, we aimed to bring a new approach to breast cancer treatment methods, by investigating the effects of krill oil, which is used as a nutritive supplement, on *in vitro* cell signaling pathways, cell proliferation and apoptosis in the subtypes of breast cancer.

Materials-Methods: The effect of krill oil on cell line proliferation was determined by MCF-7 (estrogen positive) cell line, using MTT method. Also, in the MDA-MB-231 (triple negative) cell line, to determine the effect of krill oil on apoptosis, apoptosis forward pathway enzymes, caspase 3, caspase 8 and caspase 9 expressions were determined by spectrophotometer according to the kit procedure.

Results: As a result, it was observed that, in MCF-7 cells treated with krill oil, compared to control group krill oil highly inhibited proliferation (%99,57). In the cell apoptosis study, krill oil significantly increased caspase 3 and caspase 9 levels in MDA-MB-231 cell line ($P < 0.05$), whereas it was not statistically significant at caspase 8 level ($P > 0.05$).

Conclusion: In the study of Jayathilake et al. performed on colorectal cancer cells, krill oil suppressed proliferation and initiated apoptosis. Similarly, in our study, it was observed that krill oil inhibited proliferation in MCF-7 cells and increased apoptosis in MDA-MB-231 cells. In our study, Krill oil suppressed proliferation in estrogen positive cell lines, while increased apoptosis in estrogen negative cell lines and we believe that, this will lead to a new field of research in breast cancer treatment.



SS – 69 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Mide Adenokarsinomu Hücre Modellerinde Nükleer P-Glikoproteinlerin Nükleustan İlaç Atımında ve Doksorubisin Direncindeki Rolünün İncelenmesi

Tevriz Dilan Demir¹, Hande Özkan¹, Gülnihal Özcan²

¹Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

Doksorubisin, günümüz kemoterapi protokollerinde en sık kullanılan ve en potent kemoterapötiklerden biridir. Anti-kanser etkisini DNA'ya bağlanmak ve DNA sarımlarının düzeltilmesinden sorumlu topoizomerez II enziminin inhibisyonu yoluyla göstermektedir. Bu nedenle nükleustaki ilaç konsantrasyonu ilaç etkinliğini belirleyen en önemli faktördür. Duyarlı kanser hücrelerinde, doksorubisin baskın olarak nükleusta birikmektedir. Dirençli hücrelerde ise bu birikimin anlamlı olarak azaldığı gözlenmektedir. Nükleer koruma (nuclear sparing) olarak bilinen bu duruma yol açan mekanizmalar henüz bilinmemektedir.

Bu çalışmada nükleer P-glikoprotein (P-gp)'in kemoterapiye en dirençli kanserlerden olan mide adenokarsinomunda nükleer koruma ve doksorubisine direnç gelişimindeki rolünün incelenmesi amaçlanmıştır. İlk olarak, sürekli maruziyetle doksorubisine aşamalı olarak artan direnç gösteren gastrik adenokarsinom hücre hatları oluşturulmuş ve artan dirençli hücre içi P-gp ifadesi ve dağılımının nasıl değiştiği incelenmiştir. Bu amaçla immüno Floresans, hücresel fraksiyasyon ve western blot yöntemleri kullanılmıştır. Doksorubisinin nükleustaki birikimi floresan görüntüleyici kullanılarak değerlendirilmiştir.

İmmüno Floresans incelemelerde nükleer P-gp ifadesinin aynı pasaj öyküsüne sahip ilaca maruz bırakılmamış kontrol hücrelerine kıyasla, dirençli kanser hücrelerinde arttığı gözlenmiştir. Nükleus fraksiyonlarında yapılan western blot çalışmaları bu gözlemleri doğrulamıştır. Nükleustaki doksorubisin birikiminin, kontrol hücrelerine kıyasla dirençli hücrelerde önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir.

Çalışmanın ilk bulguları, nükleer P-gp ifadesindeki artışın mide adenokarsinomu hücrelerinde nükleer koruma ve doksorubisine direnç gelişiminden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. İleri çalışmalarla nükleusta P-gp ifadesini arttırmak ya da azaltmanın nükleer koruma ve doksorubisin direnci üzerine etkisi incelenecektir.

"Bu çalışma, TÜBİTAK 3001 Başlangıç Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı (SBAG-217S342) tarafından desteklenmektedir ve TC Kalkınma Bakanlığı tarafından desteklenen, Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM)'nin hizmet ve altyapısı kullanılarak yürütülmüştür. Yazının içeriğinden tümüyle yazarlar sorumludur. TÜBİTAK ve Kalkınma Bakanlığı'nın resmi görüşünü yansıtmamaktadır."

The Role of Nuclear P-glycoproteins in Nuclear Sparing and Chemoresistance to Doxorubicin in Gastric Adenocarcinoma Cell Models

Tevriz Dilan Demir¹, Hande Özkan¹, Gülnihal Özcan²

¹Koc University Graduate School of Health Sciences, Istanbul, Turkey

²Koc University School of Medicine, Istanbul, Turkey

Doxorubicin is one of the most potent and widely used chemotherapeutics in cancer treatment. Its' primary mechanism of action is through binding to DNA and inhibiting topoisomerase II. Therefore, intra-nuclear concentration of doxorubicin is the most important determinant for its anti-cancer efficacy. In sensitive cancer cells doxorubicin predominantly accumulates in the nucleus. However, in resistant cells there is a decrease in nuclear accumulation which is known as "nuclear sparing". The underlying mechanisms for nuclear sparing is unknown yet.

In this study, we aim to investigate the role of nuclear P-glycoproteins (P-gp) in nuclear-sparing and resistance to doxorubicin in gastric adenocarcinoma which one of the most chemoresistant cancers. First, we established doxorubicin resistant gastric adenocarcinoma cell lines by continuous exposure to doxorubicin and investigated how the expression and intracellular localization of P-gp change with increasing resistance. Immunofluorescence, subcellular fractionation and western blot techniques were used for this purpose. Intra-nuclear accumulation of doxorubicin in these cells was investigated with fluorescence imaging.

In immunofluorescence studies, nuclear P-gp expression was found to be increased in resistant cancer cells compared to age-matched controls. Western blot studies in nuclear fractions confirmed these observations. Doxorubicin accumulation in nucleus was observed to be significantly reduced in resistant cells compared to controls.

Our preliminary findings suggest that increased nuclear P-gp expression could be responsible for the development of nuclear sparing and acquired resistance to doxorubicin in gastric adenocarcinoma cells. Further studies will examine the effect of increasing or decreasing nuclear P-gp expression on nuclear sparing and doxorubicin resistance.

Funding/Supports: "The authors gratefully acknowledge The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) for funding by 3001 Starting R&D Projects Funding Program (Grant No: SBAG-217S342) and use of the services and facilities of the Koç University Research Center for Translational Medicine (KUTTAM), funded by the Presidency of Turkey, Presidency of Strategy and Budget. The content is solely the responsibility of the authors and does not necessarily represent the official views of the TÜBİTAK and the Presidency of Strategy and Budget."



SS – 70 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Hepatosellüler Karsinoma’da AXL’in rolü

Tuğçe Batur^{1,2}, Umur Keleş^{1,2}, Şerif Şentürk^{1,2}, Gülçin Çakan Akdoğan^{1,2}, Zeynep Mutlu¹, Evin İşcan^{1,2}, Mehmet Öztürk¹

¹İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi

²Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü

Bir reseptör tirozin kinaz olan AXL, TAM (TYRO3, AXL, MER) ailesinin bir üyesidir. Ligandı olan Gas6 AXL’e bağlandığı zaman hücre proliferasyonu, invazyon, migrasyon EMT, ilaç direnci, sağ kalım gibi önemli yolları kontrol etmektedir. Meme, gastrit, prostat, ovaryum, akciğer ve karaciğer gibi bir çok kanser çeşidinde yüksek ifade gözlenmektedir ve düşük prognoz belirteci gibi davranmaktadır.

Axl ‘ın hepatosellüler karsinoma (HSK) hücrelerindeki ifadesini incelediğimizde, mezenkimal benzeri özelliğe sahip hücrelerde artmış olduğu görülmektedir. Bu çalışmamızda, SNU475 HSK hücre hattında, CRISPR-Cas9 ile gen susturma deneyleri kullanılarak, AXL’in HSK’deki rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

AXL ifadesi susturulmuş SNU475 hücre hattından elde edilen klonda hücre proliferasyonunda azalma, apoptoz ve hücre döngüsü G2 de hücre birikimi saptandı. Hücre döngüsünde meydana gelen bu değişimin, p53BP1 ve p-ATM moleküllerinin çekirdekteki akümülesyonunu inceleyerek DNA hasarı kaynaklı olduğunu saptadık. In vivo çalışmamız için oluşturduğumuz zebra balığı xenograft modelinde ise Crispr-Cas9 ile susturulmuş SNU475 tek hücre klonu enjekte edildi. AXL’in susturulduğu hücrelerin metastaz yapabilme kapasitesinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda azaldığı gözlemlendi. Bu doğrultuda, çalışmalarımız AXL’in HSK’da etkili bir molekül olduğunu göstermektedir ve AXL aktivitesini bastırmak amacı ile monoklonal antikor geliştirme çalışmalarımız devam etmektedir.

The Role of AXL in Hepatocellular Carcinoma

Tuğçe Batur^{1,2}, Umur Keleş^{1,2}, Şerif Şentürk^{1,2}, Gülçin Çakan Akdoğan^{1,2}, Zeynep Mutlu¹, Evin İşcan^{1,2}, Mehmet Öztürk¹

¹İzmir Biomedicine and Genome Center

²Dokuz Eylül University İzmir International Biomedicine and Genome Institute

AXL is a receptor tyrosine kinase which is a member of the TAM family (TYRO3, AXL, MER). Once ligand Gas6 binds to AXL, it controls important pathways such as cell proliferation, invasion, migration EMT, drug resistance, and cell survival. Recently, it has been found to be overexpressed in various cancer types such as breast, gastric, prostate, ovarium, lung and liver cancer and its overexpression usually has been correlated with a poor clinical outcome.

When we analyzed expression level of AXL in HCC cell lines, it appears to be overexpressed in mesenchymal-like HCC cells. In our work, we aim to examine the role of AXL in HCC by silencing the gene with CRISPR-Cas9 strategy in HCC cell line SNU475. As a result of silencing AXL in a single clone which comes from SNU475 cell line, we found a decrease in cell proliferation rate, apoptosis and G2 arrest during the cell cycle. We observed that cell cycle arrest in G2 is caused by DNA damage by examining accumulation of p53BP1 and p-ATM molecules in the nucleus.

In our in vivo study, we used zebrafish xenograft model and we showed that SNU475 single cell clone silenced with Crispr-Cas9 has significantly reduced ability of metastasis compared to the control group. Our studies show that AXL is an effective molecule in HCC development and we continue our research on developing novel monoclonal antibodies to suppress AXL activity.

Bu proje 117S246 nolu Tübitak Projesi tarafından desteklenmektedir



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 71 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Berrak Hücreli Tip Renal Hücreli Karsinom'da *VHL*, *HIF1A* ve *KAT 5* Genlerinin Ekspresyon Seviyelerinin Araştırılması

Ufuk Ünal¹, Gülşah Çeçener¹, Berna Aytaç Vuruşkan², Havva Tezcan¹, Ecem Efendi¹, Ünal Egeli¹, Berrin Tunca¹, Hülya Öztürk Nazlıoğlu², Onur Kaygısız³

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Bursa

³Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Bursa

Renal hücreli kanserler, böbrekte en sık görülen tümörlerdir ve yaklaşık olarak tüm kanserlerin %2-3'ünü oluşturur. Dünya Sağlık Örgütü'nün yapmış olduğu histopatolojik sınıflamaya göre berrak hücreli tip renal hücreli karsinomlar (BHTRHK) %80 gibi bir oranla en sık görülen alt tiptir. BHTRHK proksimal tübüllerin yüksek derecede heterojen epitelinden kaynaklanırlar ve büyük ölçüde Von Hippel-Lindau (*VHL*) tümör baskılayıcı geninin inaktivasyonu ile ilişkilidirler. *VHL* tümör baskılayıcı genin inaktivasyonu, *HIF* (Hipoksi ile indüklenen faktör) heterodimerik yapısının (*HIF-Alpha* ve *HIF-Beta* genleri) ekspresyonunu artırarak BHTRHK gelişimini tetiklemektedir. *HIF* ekspresyon seviyesi yüksek hipoksik tümörler farklı terapilere karşı daha dirençli ve agresif seyirli olmaktadır. Bununla birlikte yapılan çalışmalar, *VHL* bakımından yetersiz tümör hücrelerinin tümörojenik fenotipini yenilediğini göstermektedir. Bu sebeple mevcut çalışmada, *VHL*, *HIF1A* ile birlikte bu genin transkripsiyonunda ko-aktivatör görevi gören ve hipoksi sırasında kanser hücrelerinin sağkalımı ile proliferasyonunu etkileyen *TIP60*'ın (Histone acetyltransferase, *KAT5*) ekspresyon seviyeleri değerlendirilerek, *VHL*, *HIF1A* ve *KAT5* genleri arasındaki ifade ilişkisine dayalı bir biyobelirteç tespiti hedeflenmiştir. Çalışmada izlenen işlem basamakları sırasıyla; RNA izolasyonu (Qiagen RNA izolasyon kiti) cDNA sentezi (cDNA Reverse Transcription kiti) ve Real Time-PCR ile ekspresyon miktarları kantitatif olarak analiz edildi. Elde edilen ekspresyon sonuçları; 65 hastada yapılan analizlerde, *VHL*:-3,3 ($p=0,2585$) / *HIF1A*:3,2 ($p=0,0305$) ve *KAT5*:3,3 ($p=0,0019$) kat değişimi göstermektedir. Korelasyon sonuçları; *VHL* $r=0,451$ ($p=0,010$) / *HIF1A* $r=0,504$ ($p=0,003$) ve *KAT5* $r=0,599$ ($p=0,001$). Türk hastalarında elde edilen ekspresyon bulguları, literatürdeki çalışmalar ile desteklenmektedir. Hastalarda *VHL* genindeki ekspresyon değeri azalırken *HIF1A* ve *KAT5*'de aynı oranda artma görülmektedir. Mevcut çalışmada elde edilen bulgular ilgili üç gen arasındaki ifade değişikliklerinin ilişkisi BHTRHK'da erken tanıda bir biyobelirteç olma olasılığını göstermekte olup daha kapsamlı çalışmalar için ön bulgu sağlamaktadır.

Investigation of Expression Levels of *VHL*, *HIF1A* and *KAT 5* Genes in Clear Cell Renal Cell Carcinoma

Ufuk Ünal¹, Gülşah Çeçener¹, Berna Aytaç Vuruşkan², Havva Tezcan¹, Ecem Efendi¹, Ünal Egeli¹, Berrin Tunca¹, Hülya Öztürk Nazlıoğlu², Onur Kaygısız³

¹University of Bursa Uludağ, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Bursa

²University of Bursa Uludağ, Faculty of Medicine, Pathology Department, Bursa

³University of Bursa Uludağ, Faculty of Medicine, Urology Department, Bursa

Renal cell cancers are the most common tumors of the kidney and account for approximately 2-3% of all cancers. According to the histopathological classification of the World Health Organization, Clear cell Renal cell carcinomas (CCRCC) are the most common subtype with a rate of 80%. CCRCC originates from a highly heterogeneous epithelium of proximal tubules and is largely associated with inactivation of the Von Hippel-Lindau (*VHL*) tumor suppressor gene. Inactivation of the *VHL* tumor suppressor gene induces the development of CCRCC by increasing the expression of the *HIF* (Hypoxia Inducible Factor) heterodimeric structure (*HIF-alpha* and *HIF-beta* genes). Hypoxic tumors with high levels of *HIF* expression are more resistant and aggressive to different therapies. However, studies show that *VHL*-deficient tumor cells regenerate the tumorigenic phenotype. Therefore, expression levels of *TIP60* (Histone acetyltransferase, *KAT5*), which act as co-activators in the transcription of this gene together with *VHL*, *HIF1Alpha*, affect survival and proliferation of cancer cells during hypoxia were determined. The aim of this study was to determine a biomarker based on expression relationships of *VHL*, *HIF1A* and *KAT5*. The process steps followed in the study; RNA isolation (Qiagen RNA isolation kit), cDNA synthesis (cDNA Reverse Transcription kit) and Real Time-PCR device were analyzed quantitatively. The expression results obtained; *VHL*:-3.3 ($p=0.2585$) / *HIF1A*:3.2 ($p=0.0305$) and *KAT5*:3.3 ($p=0.0019$) fold changes in 65 patients. Correlation results; *VHL* $r=0,451$ ($p=0,010$) / *HIF1A* $r=0,504$ ($p=0,003$) and *KAT5* $r=0,599$ ($p=0,001$). Expression analysis in Turkish patients are consistent with the general literature. *VHL* gene expression decreases in patients while *HIF1A* and *KAT5* increase in the same rate. The expression relationship between these three genes suggests the possibility of being a biomarker in early diagnosis in CCRCC and provides preliminary findings for further studies.

Mevcut çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, OUP(T)2017/3 nolu proje kapsamında desteklenmektedir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 72 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Hepatoselüler karsinom tanısında biyobelirteç arayışına yeni bir bakış: Gen füzyonları

Yasemin Öztumur Islakoğlu¹, Peyda Korhan¹, Işık Barış Fidaner¹, Gökhan Karakulah², Neşe Atabey¹

¹*İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi*

²*İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü*

Karaciğer kanseri tüm dünyada en sık görülen kanserlerde 6. ve kanser kaynaklı ölümlerde ise 4. sıradadır. Hepatoselüler karsinom (HCC) karaciğer kanserlerinin yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır ancak heterojen ve karmaşık yapısı sebebiyle erken tanı ve tedavi seçenekleri çok sınırlıdır. Gen füzyonlarının kanser ilerlemesinde ve tümör oluşumunda kritik rol oynadığı bilinmektedir. Füzyon transkriptler özellikle hematolojik malignansilerin tanısında biyobelirteç olarak sıklıkla kullanılmaktadır ancak HCC'de biyobelirteç olarak tanımlanan bir füzyon henüz bulunmamaktadır. Bu çalışmada HCC ilişkili füzyonların biyoinformatik yöntemler ile araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda yeniden analizi yapılan transkriptom verisi, SRP069212, yüksek işlem hacimli dizileme verilerinin depolandığı veritabanı olan NCBI SRA (Sequence Read Archive) kullanılarak elde edilmiştir. Kullanılan çalışma 20 HCC hastasından elde edilmiş, 20 primer tümör, 20 eş normal ve 20 portal ven trombozisi (PVT) olmak üzere 60 örnekten oluşmaktadır. Örneklerde mevcut olan füzyonları tespit etmek için STAR-Fusion kullanılarak analiz yapılmıştır. Elde edilen listelerde tümör örneklerinde 165, eş normal örneklerde 186, PVT örneklerinde ise 175 tane füzyon tespit edilmiştir. Venny 2.1 ile yapılan analizlerde bu füzyonlardan 94 tanesinin tümör spesifik olduğu belirlenmiştir. Örneklerin klinik özellikleri göz önünde bulundurularak yapılan incelemede ise 75 füzyonun sadece sirotik, 92 füzyonun HBV pozitif, FLNB-MALAT1, TCAIM-MALAT1 füzyonlarının ise HBV negatif tümörlere spesifik olduğu belirlenmiştir. Onkogenik uzun kodlanmayan bir RNA olan MALAT1'in bireysel olarak HBV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu ve MALAT1'i içeren füzyonların çeşitli kanserlerde kritik rol oynadığı düşünüldüğünde elde edilen listelerin ileri analizlerinin önemi açıktır. HCC tanısında global ve/veya alt tiplerine özgü biyobelirteç adaylarının tespit edilmesi için füzyon transkriptlerini öneren çalışmamız bu anlamda güçlü ve yeni bir bakış açısı sunmaktadır.

A new approach in HCC diagnostic biomarker discovery: Gene fusions

Yasemin Öztumur Islakoğlu¹, Peyda Korhan¹, Işık Barış Fidaner¹, Gökhan Karakulah², Neşe Atabey¹

¹*İzmir Biomedicine and Genome Center*

²*İzmir Biomedicine and Genome Center; Dokuz Eylül University İzmir International Biomedicine and Genome Institute*

Liver cancer is the 6th most common cancer in the world and 4th in cancer related deaths. HCC accounts for approximately 85% of liver cancers. Early diagnosis and treatment options are very limited. Gene fusions are known to play a critical role in cancer progression and tumor formation. Fusion transcripts are frequently used as biomarkers in the diagnosis of hematologic malignancies, but there is no fusion described as biomarker in HCC. The aim of this study is to investigate HCC related fusions using bioinformatics methods. In our study, we re-analyzed transcriptome data, called SRP069212. We obtained SRP069212 from NCBI SRA (Sequence Read Archive) that is a database of high throughput sequencing data. The study contained 20 primary tumors, 20 adjacent normal and 20 portal vein thrombosis (PVT) samples from 20 HCC patients. Fusions analysis was performed using STAR-Fusion. We found 165 fusions in tumor samples, 186 fusions in adjacent normal and 175 fusions in PVT samples. Using Venny 2.1, we determined that 94 of these fusions were tumor specific. Furthermore, 75 fusions were cirrhosis specific, 92 fusions were only found in HBV positive tumors and FLNB-MALAT1, TCAIM-MALAT1 fusions were only detected in HBV negative tumors. An oncogenic non-long-coding RNA, MALAT1 is associated with HBV infection and MALAT1-mediated fusions play a critical role in various cancers, therefore further analysis of the lists detected fusions is important. Our study, using bioinformatics tools in HCC biomarker discovery offers a strong and novel perspective.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 73 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

Mesane Kanserinde Kukurbitasin B Ve Sisplatinin'in Anti-Proliferatif Etkilerinin Hücre Ölüm Yolaklarında Araştırılması

Yener Kurman¹, İlker Kılıçcioğlu¹, Asiye Uğraş Dikmen², Güldal Esendağlı³, Cenk Y. Bilen⁴, Sinan Sözen⁵, Ece Konaç¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara, Türkiye

⁵Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye

Amaç: Mesane kanseri, dünyadaki kanser ölümlerinin önemli bir bölümünden sorumlu olan bir malignitedir. Sisplatin, mesane kanserinin tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoteröpatik bir ajandır ancak önemli ölçüdeki yan etkileri ve oluşan ilaç direnci yaygın görülen durumlardır. Kukurbitasin B(KuB), cucurbitaceae bitkilerinden elde edilen kukurbitasin ailesinin bir üyesidir. KuB ve türevlerinin, kanser hücrelerinin proliferasyonunu azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızda; KuB ve sisplatinin, mesane kanseri üzerindeki anti-tümör özelliklerini, in vitro ve in vivo tümör modellerinde araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Sisplatin ve KuB'nin tekli ve kombine dozları MB49 hücre hattına uygulanarak hücre canlılığı WST yöntemi ile incelendi. 1x10⁶ MB49 hücre süspansiyonu, PBS içinde her bir C57BL/6 fare soyunun flank kısmına enjekte edildi. Tedavi sonrası tümör dokuları çıkarıldı ve otofaji yolağı proteinleri (Beklin-1 ve LC3B) ile apoptoz yolağı proteinlerinin (Bcl-2, Bax ve cleaved caspase 3) ifade düzeyleri western blot yöntemi ile araştırıldı. Tümör dokuları, rutin hematoksilen-eozin ve Ki-67 antijen boyamaları yapılarak incelendi.

Bulgular: Kukurbitasin B sisplatin ile birlikte MB49 hücrelerinin canlılığını azaltmıştır. Fare tümör modelinde; sisplatin ve KuB tümör gelişimini sırasıyla %38 ve %51 oranında engellemiştir. Kombine grupta azalma oranı %68'dir. KuB sisplatin ile birlikte; Bax, cleaved caspase 3, Beklin-1 ve LC3B miktarlarını arttırırken, Bcl-2 miktarını azaltmıştır. Bu sonuçlar KuB'nin, tek başına ve sisplatin ile birlikte tümör dokularında apoptoz ve otofajiyi uyardığını göstermektedir.

Sonuç: Sonuçlarımız, KuB nin mesane kanserinin tedavisinde kemoteröpatik etkinliğini artırıcı potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Investigating Anti-proliferative Effects of Cucurbitacin B and Cisplatin on the Cell Death Pathways in Bladder Cancer

Yener Kurman¹, İlker Kılıçcioğlu¹, Asiye Uğraş Dikmen², Güldal Esendağlı³, Cenk Y. Bilen⁴, Sinan Sözen⁵, Ece Konaç¹

¹Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Beşevler, Ankara, Turkey

²Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Public Health, Beşevler, Ankara, Turkey

³Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Beşevler, Ankara, Turkey

⁴Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Urology, Sıhhiye, Ankara, Turkey

⁵Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Urology, Beşevler, Ankara, Turkey

Objective: Bladder cancer is a malignancy that responsible for a significant proportion of cancer deaths around the world. Cisplatin is a frequently used chemotherapeutic agent in the treatment of bladder cancer, but significant side effects and drug resistance are common. Cucurbitacin B (CuB) is a member of the cucurbitacin family obtained from cucurbitaceae plants. It has been shown that in various studies with CuB and its derivatives reduce proliferation of cancer cells. In this study; we aimed to investigate the anti-tumor properties of CuB and cisplatin on bladder cancer in vitro and in vivo tumor models.

Materials-Methods: Single and combined doses of cisplatin and CuB were administered to MB49 cell line and cell viability was investigated by WST method. 1x10⁶ MB49 cells in PBS were injected subcutaneously into the flank of the each C57BL/6 mouse strain. After treatment, tumor tissues removed and expression levels of apoptotic pathway proteins (Bcl-2, Bax, cleaved caspase 3) and autophagy pathway proteins (Beclin-1, LC3B) determined by western blot method. Tumor tissues were examined by routine hematoxylin-eosin and Ki-67 antigen staining.

Results: Cucurbitacin B reduced the viability of MB49 cells with cisplatin. In mouse tumor model; cisplatin and CuB inhibited tumor growth respectively by %38 and %51. In the combined group, decreased rate was %68. CuB together with cisplatin increased the levels of Bax, cleaved caspase 3, Beclin-1 and LC3B and decreased Bcl-2. These results indicate that CuB alone and in combination with cisplatin induces apoptosis and autophagy in tumor tissues.

Conclusion: Our results show that CuB can be used as a potential agent that enhance the chemotherapeutic efficacy in the treatment of bladder cancer.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 74 SÖZLÜ BİLDİRİ / KANSER

İnsülin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 7 ekspresyonu ve özofagus kanseri arasındaki ilişki

Zehra Kaya¹, Necat Almalı², Yasin Tülüce¹, Halil Özkol¹, Gökhan Görgişen¹

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı

Amaç: Özofagus kanseri (EC) dünyada önde gelen malign kanserlerden biridir. EC genellikle ileri evrede teşhis edilir, bunun temel nedeni erken klinik semptom ve biyobelirteçlerin olmayışıdır. İnsülin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 7 (IGFBP7) ekspresyonundaki değişimler, EC’de dahil birçok kanserde yaygın görülen moleküler değişimlerdir. Genel olarak IGFBP7’nin tartışmalı durumu konusundaki çekişmeler netliğe kavuşmamıştır. Çalışmamızın amacı, EC’li hastalarda IGFBP7 ekspresyonunun ilişkisini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya EC’li 55 hasta ve 55 sağlıklı kontrol dahil edildi. RNA periferik kan örneklerinden izole edildi. IGFBP7 mRNA ekspresyonu, kantitatif ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) ile araştırıldı.

Bulgular: EC grupta IGFBP7 ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksekti, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Bununla birlikte Mann-Whitney U test sonucuna göre, bu oran sağlıklı kadınlara göre hasta kadınlarda anlamlı şekilde daha yüksekti ($p<0.05$). Tandır dumanına maruz kalan tüm kadınlarda genin yüksek ekspresyonu gözlemlendi ($p<0.005$). Diğer yandan IGFBP7 ekspresyonu ve diğer demografik/klinikopatolojik özellikler arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenmedi.

Tartışma: Özofagus kanserinde tümör hücrelerinin erken tespit ve tedavisini sağlayan tanısal belirteçlere ihtiyaç vardır. Çalışmamız, IGFBP7 ekspresyonunun özellikle kadınlarda EC gelişmesinde belirleyici bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir. Bu ilişkiyi açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Association between insulin-like growth factor binding protein 7 expression and esophageal cancer

Zehra Kaya¹, Necat Almalı², Yasin Tülüce¹, Halil Özkol¹, Gökhan Görgişen¹

¹Van Yüzüncü Yıl University, School of Medicine, Medical Biology Department

²Van Yüzüncü Yıl University, School of Medicine, General Surgery Department

Objective: Esophageal cancer (EC) is one of the leading malignant cancer in the world. EC is often diagnosed during its advanced stage, the main reason being the lack of early clinical symptoms and biomarkers. Variation of insulin-like growth factor binding protein 7 (IGFBP7) expression is common molecular alterations in many cancer including EC. Generally, contention on the controversial status of IGFBP7 is inconclusive. The objective of our study was to investigate association of IGFBP7 expression in patients with EC.

Materials-Methods: Fifty-five patients with EC and 55 healthy controls were enrolled in the study. RNA was isolated from peripheral blood samples. The expression of the IGFBP7 mRNA was investigated by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR).

Results: The levels of IGFBP7 expression in EC group were higher than that in control group, but not statistically significant ($p>0.05$). However, this rate was significantly higher in female patients than that in female controls, compared by the Mann-Whitney U test ($p<0.05$). High expression of the gene was observed in all women exposed to tandoor fumes ($p<0.005$). On the other hand, no significant association was observed between IGFBP7 expression and other demographic/clinicopathological parameters.

Conclusion: Diagnostic markers are needed for achieving a cure in esophageal cancer detecting and treating tumor cells earlier. Our study suggest that IGFBP7 expression may be predictive biomarker for the development of EC, especially in women. Further studies are needed to clarify this association.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ



SS – 001 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

**Ghreltin tedavisi tip 2 diyabetik sıçanlarda
kannabinoid-1 ve glukagon benzeri peptid-1
reseptörlerinin ekspresyonlarını azaltır**

Bilge Nur Bilge¹, Zeynep Mine Coşkun², Aışa Bahar
Beydoğan¹, Sema Bolkent¹

¹*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

²*Demiroğlu Bilim Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Tip 2 diyabet hastalığı metabolik fonksiyon bozukluğunun sonuçlarından biridir. Ghreltin hormonunun glukoz ve iştah metabolizması üzerinde düzenleyici bir etkisi vardır. Son çalışmalar ghreltin ve glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) arasında bir ilişki olduğunu desteklemektedir. Ayrıca ghreltinin etkileri için cannabinoid sinyal sistemi gerekmektedir. Fakat bu mekanizmalar arasındaki ilişki kesin olarak bilinmemektedir. Bu yüzden çalışmamızda ghreltin tedavisinin fruktoz+streptozotocin (STZ) diyabetik sıçan duodenumu üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanlar üç gruba ayrıldı. Kontrol grubu çeşme suyu içti. Diyabetik grup iki hafta boyunca % 10 fruktozlu su içti ve takiben sıçanlara intraperitoneal (ip) tek doz 40 mg/kg STZ enjekte edildi. Ghreltin tedavi grubu için diyabetik sıçanlara iki hafta boyunca ghreltin (25 µg/kg, ip) enjekte edildi. Vücut ağırlıkları haftalık olarak ölçüldü. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1R, Glp1r) ve cannabinoid-1 (CB-1R, Cnr1) reseptörleri duodenumda immünohistokimya ile gösterildi. Ayrıca, Glp1r ve Cnr1 mRNA ekspresyon seviyesi duodenumdaki kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile analiz edildi.

Bulgular: Haftalık vücut ağırlıkları tedavi grubunda diyabet grubuna göre önemli ölçüde azaldı. CB-1R ve GLP-1R immün pozitif hücre sayı ve şiddeti, kontrol grubuyla kıyaslandığında diyabet grubunda anlamlı olarak azaldı. Ayrıca CB-1R ve GLP-1R immün pozitif hücre sayı ve şiddeti diyabetik grup ile karşılaştırıldığında tedavi grubunda anlamlı derecede azaldı. İmmünohistokimya sonuçlarına benzer olarak, Glp1r ve Cnr1 mRNA ekspresyon seviyeleri diyabet grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma gösterdi. Ghreltin tedavisi uygulanan diyabetik gruba ait Glp1r ve Cnr1 mRNA ekspresyon seviyelerinde diyabet grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı.

Sonuç: Bulgularımıza göre, ghreltin diyabetik sıçan duodenumunda CB-1R ve GLP-1R ekspresyon seviyelerinde azaltıcı bir etkiye sahip olabilir. Bu düzenleyici etki enerji ve/veya iştah kontrolü ile ilişkili olabilir.

**Ghreltin treatment reduces the expression
levels of cannabinoid-1 and glucagon-like
peptide-1 receptors in type 2 diabetic rats**

Bilge Nur Bilge¹, Zeynep Mine Coşkun², Aışa Bahar
Beydoğan¹, Sema Bolkent¹

¹*Department of Medical Biology, Faculty of Cerrahpaşa
Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey*

²*Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts
and Sciences, Demiroğlu Bilim University, Istanbul, Turkey*

Introduction: Type 2 diabetes mellitus is a result of metabolic dysfunction. Ghreltin hormone has a regulatory effect on glucose and appetite metabolism. Emerging evidence supports there is an interaction between ghreltin and glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R). Also, an intact cannabinoid signaling system is necessary for the effects of ghreltin. On the other hand, the exact mechanisms of the interactions are unknown. Thus, we aimed to investigate the effects of ghreltin treatment on fructose+streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat duodenum.

Materials & Methods: Adult male Sprague-Dawley rats were divided into three groups. Control group received free tap water. Diabetes was induced by feeding 10% fructose in drinking water for two weeks, followed with a single dose of 40 mg/kg STZ intraperitoneally (ip) injected to rats. Ghreltin (25 µg/kg, ip) was injected to the diabetic rats for two weeks to treatment group. Body weight was measured as weekly. GLP-1R, Glp1r and cannabinoid receptor-1 (CB-1R, Cnr1) peptides were shown by immunohistochemistry. Glp1r and Cnr1 mRNA expressions were analyzed by quantitative real-time polymerase chain reaction.

Results: Body weight was significantly lower in the ghreltin treatment group to diabetes group. The number and intensity of CB-1R and GLP-1R immune positive cells significantly decreased in diabetic group as compared to control. Ghreltin treatment reduced the number and intensity of CB-1R and GLP-1R immune positive cells in diabetic group as compared to non-treated diabetic rats, significantly. Similarly, to immunohistochemistry results, Glp1r and Cnr1 mRNA expressions showed a significant decrease in diabetic group as compared controls. A significant decrease was observed in the levels of Glp1r and Cnr1 mRNA expression of treatment group as compared to diabetic group.

Conclusions: According to our findings, the ghreltin may have down regulator effect on the expressions of CB-1R and GLP-1R in diabetic rat duodenum. The regulatory effect may be associated with energy and/or appetite control.



SS – 002 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

**Diyete Bağlı Endotel Hasarı Oluşturulan
Ratlarda RANKL/OPG Sinyal Yolağı
Aktiviteleri**

Gizem Çelebi¹, Evrim Kömürcü Bayrak¹, Merve Anapalı³, Fatma Kaya Dağıstanlı², Turgut Ulutin²

¹*İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

³*Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum*

Amaç: Ateroskleroz gelişiminin ilk basamağı olan endotel hasarında, OPG/RANKL sinyal yolağının rolü ve Vitamin D tedavisi ile bu yolağa rol alan genlerin ifade düzeylerindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Sprague Dawley erkek ratlarda oluşturulan Tip 2 Diyabet Mellitus (T2DM) Modeli kullanılarak OPG/RANKL yolağındaki aktivitelerin endotel hasarı üzerine etkisi araştırıldı. Endotelial hasara bağımlı mikrovasküler etkileri belirlemek için, damardaki kalsifikasyon ve enflamatuvar süreçlerde rol alan *Opg*, *Rankl*, *Runx2*, *Bmp-2*, *Il-1β*, *Tnfa*, *Nos3*, *Icam-1* gen ifade seviyeleri değerlendirildi. Ayrıca çalışma kapsamında, OPG/RANKL yolağındaki düzenleyicilerden biri olan vitamin D3 uygulamasının diyabet varlığında yolağa ilişkili genler üzerine etkisi araştırıldı.

Bulgular: Diyabetli sıçanlarda diğer deney gruplarına kıyasla *Opg*, *Il-1β*, *Bmp-2* mRNA ifade seviyeleri ile endotel hasarı belirteci olarak seçilen *Icam-1* gen ifade seviyesinin diyabetli sıçan grubunda arttığı belirlendi. Vitamin D3 uygulanan diyabetli sıçanlarda 4 hafta sonunda kan şekeri düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu ($p < 0.01$) deney sonunda ise diyabet grubunda diğer gruplara kıyasla çok anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ($p < 0.001$). Diyabetli sıçanların aort dokusunda, vitamin D3 uygulaması sonucunda *Opg* ve *Il-1β* mRNA ifade seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlemlendi.

Sonuç: Vitamin D3 takviyesinin diyabet varlığında endotel dokuyu olumlu yönde etkilediği ve OPG'nin vasküler homeostaza aracılık eden sitokinlerin düzenlenmesinde rol oynadığı çalışma sonuçları ile desteklenmiştir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 32715

**RANKL/OPG Signalling Activities at Rat
Models Forming Diet-Induced Endothelial
Dysfunction**

Gizem Çelebi¹, Evrim Kömürcü Bayrak¹, Merve Anapalı³, Fatma Kaya Dağıstanlı², Turgut Ulutin²

¹*İstanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Genetics Department, İstanbul*

²*İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Medical Biology Department, İstanbul*

³*Atatürk University Medical Faculty, Medical Biology Department, Erzurum*

Objective: The study was aimed to obtain preliminary information that could contribute to both preventions of endothelial damage and determination of new treatment goals.

Materials-Methods: Male Sprague Dawley rats were used to make Type 2 Diabetes Mellitus Model and the role of RANKL/OPG pathway in endothelial damage is studied. Endothelial damage-dependent microvascular analysis is analysed by using gene expression of *Opg*, *Rankl*, *Runx2*, *Bmp-2*, *Il-1β*, *Tnfa*, *Nos3*, *Icam-1*.

Results: In diabetic rats, *Opg*, *Il-1β*, *Bmp2* expression levels increase significantly while mRNA level of *Icam-1* and *Nos3* as markers of endothelial damage show also a significant correlation with elevation of mRNA level of *Opg*. In addition, effect of vitamin D3 which is one of the regulators in the OPG/RANKL pathway on the gene expression were studied in the presence of diabetes. After 4 weeks, blood sugar levels significantly increased ($p < 0.001$) in diabetic rats compared to other experimental groups. In the aortic endothelial cells of diabetic rats, vitamin D3 administration it was observed significant difference in expression levels of the *Opg* and *Il-1b* gene.

Conclusion: This study shows that vitamin D supplementation effect on OPG/RANKL activity in the vessel wall. These study results provide the first evidence that Vitamin D3 supplementation results in ameliorated endothelial damage in type 2 diabetes mellitus, and that OPG plays a crucial role in the regulation of cytokines mediating vascular homeostasis.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 32715



SS – 003 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Non-immune hydrops fetalis gelişiminde rol oynayan sinyal yolağının in silico analizlerle belirlenmesi

Gökhan Yıldız, Fikret Yonar, Tuba Dinçer, Bayram Toraman, Ersan Kalay

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

Non-immune hydrops fetalis (NIHF), fetüslerin deri altı, plevra, perikard veya periton bölgelerinden en az ikisinde aşırı sıvı birikimiyle karakterize ölümcül bir hastalıktır. NIHF'nin prevalansı 1/1700-3000 olup, mortalite oranı %50-98 arasındadır. Bu güne kadar çok sayıda gen NIHF'nin etiyolojisiyle ilişkilendirilmiştir; ama NIHF'nin moleküler mekanizması bilinmemektedir ve tedavisi yoktur. Bu çalışmanın amacı, NIHF'nin etiyolojisinde yer alan genlerin fonksiyonlarını ve etkileşimlerini *in silico* yöntemlerle analiz ederek, NIHF gelişiminde merkezi rol oynayan molekülleri, mekanizmaları ve sinyal yolağını belirlemektir. NIHF ilişkili genler listesi, literatür taramasıyla belirlendi. Belirlenen genlerden kodlanan proteinlerin birlikte rol oynadıkları biyolojik süreçlerin tespit edilmesi için Enrichr isimli fonksiyonel zenginleşme analizi aracı, protein-protein etkileşimi (PPE) ağının oluşturulması için Cytoscape programı ve STRING eklentisi, NIHF ilişkili sinyal yolağının oluşturulması için ise KEGG ve WikiPathways veri tabanları ile PathVisio programı kullanıldı. Literatür taramasıyla, 119 genin NIHF gelişimiyle ilişkili olduğu belirlendi. Yapılan fonksiyonel zenginleşme analizleriyle, bu genlerin birlikte rol oynadıkları en yüksek skora sahip ilk beş biyolojik sürecin sırasıyla RAS sinyal yolağı (33.38 skor ve 20 gen), kardiyovasküler sistem gelişimi (20.68 skor ve 17 gen), lipid makromolekülleri metabolizması (10.82 skor ve 13 gen), hücre içi madde taşınması (8.08 skor ve 7 gen) ve kas kasılması (7.52 skor ve 7 gen) mekanizmaları olduğu belirlendi (her biri $p < 0.05$). PPE ağ analizleriyle, güvenilirlik skorları 0.7'den yüksek olan protein etkileşimlerini içeren ve 81 düğüm ile 128 bağlantıdan oluşan bir ağ belirlendi. Elde edilen verileri birleştirerek, merkezinde RAS/MAPK yolağı proteinlerinin yer aldığı özgün NIHF sinyal yolağı ilk kez ortaya çıkarıldı. Sonuç olarak, sistem biyolojisi analiz yöntemlerini kullandığımız çalışmamızla, NIHF gelişiminde rol oynayan kilit proteinler, mekanizmalar ve sinyal yolağı belirlenmiştir. Elde edilen verilerin, NIHF'nin etiopatogenezinin daha iyi anlaşılmasına ve NIHF'ye özgü tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağı değerlendirilmektedir.

In silico identification of the signaling pathway of non-immune hydrops fetalis

Gökhan Yıldız, Fikret Yonar, Tuba Dinçer, Bayram Toraman, Ersan Kalay

Karadeniz Technical University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Trabzon, Turkey

Non-immune hydrops fetalis (NIHF) is a fatal disease, which is characterized with excessive fluid accumulation in at least two of the following fetal areas; skin, pleura, pericardium, or peritoneum. The prevalence and mortality rates of NIHF are 1/1700-3000 and %50-98, respectively. Although many genes have been associated with the etiology of NIHF, the molecular mechanism of NIHF is not known and NIHF cannot be treated. The aim of this study is to identify central molecules, mechanisms and the signaling pathway of NIHF, via *in silico* analyses of NIHF-associated genes. We determined the list of NIHF-associated genes via literature search. We used Enrichr tool to perform functional enrichment analyses, Cytoscape software with STRING application to determine protein-protein interaction (PPE) network, and PathVisio software with KEGG and WikiPathways databases to construct NIHF signaling pathway. We identified that, 119 genes are associated with NIHF. Functional enrichment analyses revealed that, the top five biological processes, which these genes function together, are RAS pathway (score: 33.48, genes: 20), cardiovascular system development (score: 20.68, genes: 17), metabolism of lipid macromolecules (score: 10.82, genes: 13), intracellular transport (score: 8.08, genes: 7), and muscle contraction (score: 7.52, genes: 12) ($p < 0.05$ for each). PPE analyses revealed a network, which includes 81 nodes and 128 edges with interaction confidence scores more than 0.7. We determined the unique RAS/MAPK pathway-centric NIHF signaling pathway, for the first time, by combining the obtained data. In conclusion, in this study, we identified key proteins, mechanisms and the signaling pathway of NIHF, using systems biology analysis methods. This study provided valuable data for both better understanding the etiopathogenesis of NIHF and development of therapeutic applications against NIHF.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 004 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Tekrarlayan gebelik kaybı, non-immün hidrops fetalis ve hiperstimüle overler görülen bir ailede otozomal resesif LZTR1 mutasyonu

Gökhan Yıldız¹, İdris Er¹, Tuba Dinçer¹, Bayram Toraman¹, Süleyman Güven², Ersan Kalay¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

²Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

Non-immune hydrops fetalis (NIHF), fetal yumuşak dokularda aşırı sıvı birikimiyle karakterize, görülme sıklığı 1/1.700-3.000 ve mortalite oranı %50-98 arasında değişen bir patolojidir. Farklı fetal patolojik durumlarla ve çeşitli tek gen hastalıklarıyla birlikteliği gösterilmiş olan NIHF'nin yaklaşık %20'si idiyopatik olarak sınıflandırılmaktadır. Bugüne kadar NIHF ile ilişkilendirilmiş yüzün üzerinde gen bulunmakla birlikte bu grubun neredeyse tamamında hidrops bulgusu farklı bir hastalığa eşlik eden patolojik bulgu olarak gösterilmiştir. Geline aşamada NIHF'nin genetik etiyojisi ve etiopatogenezi hakkında sınırlı bilgi mevcuttur. Bu çalışma kapsamında, 10-14. gebelik haftası arasında dört gebeliğine NIHF ve hiperstimüle over tanısı konulan ve 14-21. haftalar arasında tıbbi müdahaleyle gebelikleri sonlandırılan, akraba evliliği yapmış bir ailede NIHF'den sorumlu genetik etiolojinin aydınlatılması hedeflendi. Bu doğrultuda, ailedeki iki fetüs ve anne babaya ait genomik DNA örnekleri kullanılarak genom boyu homozigotluk taraması ve tüm ekzom dizileme çalışmaları gerçekleştirildi. Ailenin genomik verilerinin analizi ailedeki akraba evliliği dikkate alınarak resesif kalıtım modeli hipotezi üzerinden gerçekleştirildi. Analiz sonucunda, daha önce farklı mutasyonları Noonan sendromu, Schwannomatoz tip 2 ve glioblastoma ile ilişkilendirilmiş ve yakın zamanda RAS sinyal yolağında görevli olduğu gösterilmiş olan LZTR1 (leucine-zipper-like transcription regulator 1) geni üzerinde korunmuş bir amino asidin değişimine neden olan yeni bir varyasyon (c.2317G>A; p.Val773Met) belirlendi. Ailede NIHF ile birlikte kalıtılan, kontrol grubunda görülmeyen ve in silico analizler ile patojenik olabileceği gösterilen bu değişim, NIHF'den sorumlu mutasyon olarak değerlendirildi. Takip eden süreçte, aynı mutasyonun Arap asıllı NIHF'li bir fetusta da homozigot olarak rapor edilmesi sonuçlarımızı desteklerken, preimplantasyon genetik tanı yönteminden yararlanan aile güncel tüp bebek yöntemi ile sağlıklı bir bebek sahibi oldu. Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında, LZTR1 geni üzerindeki homozigot bir mutasyon otozomal resesif olarak kalıtılan NIHF ve maternal hiperstimüle overler ile ilişkilendirilmiş olup, NIHF'nin genetik etiyojisinin ve oluşum mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlayacak yeni veriler elde edilmiştir.

Autosomal recessive LZTR1 mutation in a family with recurrent pregnancy loss, non-immune hydrops fetalis and hyperstimulated ovaries

Gökhan Yıldız¹, İdris Er¹, Tuba Dinçer¹, Bayram Toraman¹, Süleyman Güven², Ersan Kalay¹

¹Karadeniz Technical University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Trabzon, Turkey

²Karadeniz Technical University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology, Trabzon, Turkey

Non-immune hydrops fetalis (NIHF) is a pathology, which is characterized with excessive fluid accumulation in fetal soft tissues, with 1/1.700-3.000 prevalence and 50-98% mortality rates. So far, the etiology of NIHF is associated with several pathologies, single gene disorders, and more than 100 genes, however 20% of NIHF cases are idiopathic. In this study, we aimed to identify the genetic etiology of NIHF in a consanguineous family, whose four fetuses were diagnosed as NIHF with maternal hyperstimulated ovaries at the 10-14. weeks and medically terminated at the 14-21. weeks. To reach this aim, we performed genome-wide homozygosity mapping and whole exome sequencing studies, using genomic DNA samples of two fetuses and the parents. We used the recessive inheritance pattern hypothesis for data analyses and identified a homozygous genetic variation, altering a conserved amino acid (c.2317G>A; p.Val773Met) of a novel RAS signaling pathway member LZTR1 (leucine-zipper-like transcription regulator 1) gene, whose different mutations are associated with Noonan syndrome, Schwannomatosis type 2, and glioblastoma. We demonstrated that, the identified mutation cosegregates with NIHF in the family, is not present in an unrelated healthy control group, and predicted to be pathogenic to the protein through in silico analyses. In addition, identification of the same homozygous mutation in an Arab NIHF-diagnosed fetus supported our findings. Collectively, these data suggest that the identified mutation is responsible for NIHF in the family. The family decided to utilize the obtained genetic data for preimplantation genetic diagnosis and successfully had a healthy child using the current in vitro fertilization techniques. In conclusion, in this study, we have successfully associated a homozygous missense mutation of LZTR1 gene with an autosomal recessively inherited NIHF and maternal hyperstimulated ovaries; and obtained valuable data for both better understanding the etiopathogenesis of NIHF and development of therapeutic applications against NIHF.



SS – 005 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

**LAP1B eksikliğinin kas farklılaşması
esnasında hücre döngüsü çıkışı üzerindeki
etkisi**

Gülsüm Kayman Kürekçi¹, Aybar Can Acar², Pervin
Rukiye Dinçer¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı, Ankara

²Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoinformatik Bölümü, Ankara

Amaç: Lamina-associated polypeptide 1 (LAP1) birçok dokuda iki izoform (LAP1B ve LAP1C) halinde ifadesi bulunan çekirdek iç membranında yerleşim gösteren bir transmembran proteindir. Her iki izoformun kaybı ağır bir multisistemik hastalığa neden olurken, LAP1B izoformunun tek başına eksik olması kardiyomiyopati ile eşlik eden kas distrofisine neden olmaktadır. Bu bulgular, LAP1B'nin çizgili kaslarda önemli bir rolü olduğuna işaret etmektedir. Çalışmanın amacı, LAP1B eksikliğinin kas hücrelerinin farklılaşması üzerindeki etkilerini belirlemektir.

Gereç-Yöntem: LAP1B ifadesi olmayan fibroblastların miyoblastlara farklılaşma etkinliği incelenmiş ve LAP1B eksikliği ile meydana gelen transkriptom düzeyindeki değişiklikleri belirlemek amacı ile RNA dizileme yöntemi kullanılmıştır. RNA ve protein ifadelerindeki kat değişimleri qPCR ve western blot yöntemleri ile incelenmiştir. LAP1B'nin kas farklılaşması sürecinde hücre döngüsünün ilerleyişi üzerindeki etkisi propidium iodide boyası kullanarak akım sitometrisi ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Kontrol hücreler farklılaşma uyarımının 8. gününde çok çekirdekli miyotüplere tamamen farklılaşmışken, LAP1B-mutant hücrelerin füzyonunun gerçekleşmediği ve 17. günde çekirdeklerin %16'sının apoptoz morfolojisine sahip olduğu gözlenmiştir. Transkriptom analizleri hücre döngüsü ile ilişkili genlerin ifadelerinin farklılaşma sürecine bağlı olarak mutant hücrelerde kontrol hücrelere göre değiştiğini göstermiştir. Farklılaşma uyarımı sonrasında, kontrol hücrelerde hücre döngüsü çıkışı ile birlikte Cdk inhibitörü p21'nin ifadesinin arttığı gözlenmiştir. Ancak mutant hücrelerde p21 ifadesinin kontrol hücrelere kıyasla düşük olduğu saptanmıştır. Akım sitometrisi analizleri kontrol hücrelerde G1 fazında bulunan hücre oranının farklılaşma boyunca arttığını gösterirken, aynı sonuçlar mutant hücrelerde bulunmamıştır.

Sonuç: Bulgular LAP1B eksikliğinin kas farklılaşmasında görevli yolların programlanmasında hatalara neden olduğunu göstermektedir. Mutant hücrelerde farklılaşma ile birlikte p21 ifade artışının yeterince uyarılamaması ve akım sitometrisi bulguları, LAP1B'nin farklılaşma sürecinde hücre döngüsü çıkışında rolü olabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışma TÜBİTAK (Proje no. 116S307) tarafından desteklenmiştir.

**Cells lacking LAP1B are defective in
withdrawal from the cell cycle during
myogenic differentiation**

Gülsüm Kayman Kürekçi¹, Aybar Can Acar², Pervin
Rukiye Dinçer¹

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Dpt. of Medical
Biology, Ankara

²Middle East Technical University, Dpt. of Bioinformatics,
Ankara

Objective: Lamina-associated polypeptide 1 (LAP1) is a transmembrane protein of the inner nuclear membrane that is expressed as two isoforms (LAP1B and LAP1C) in a multitude of tissues. While combined loss of both isoforms is associated with a severe multisystemic disorder, specific loss of LAP1B causes muscular dystrophy with cardiomyopathy, indicating that LAP1B has an essential role in striated muscle. Our aim is to identify the effects of LAP1B-deficiency on the differentiation of muscle cells.

Materials-Methods: We analyzed the differentiation efficiency of LAP1B-deficient fibroblasts transdifferentiated to myoblasts and performed RNA sequencing in order to establish transcriptomic changes resulting from the absence of LAP1B. qPCR and western blot were used to confirm RNA and protein expression fold changes. Flow cytometry with propidium iodide staining was used to determine the effect of LAP1B on cell cycle progression during myogenic differentiation.

Results: While control cells were fully differentiated to multinucleated myotubes after 8 days of induction, LAP1B-mutant cells failed to fuse and 16% of nuclei exhibited apoptotic morphology after 17 days of differentiation. Transcriptome analyses showed that genes associated with cell cycle were differentially expressed in a time-dependent manner in mutant cells compared to control cells. After induction to differentiation, expression of Cdk inhibitor p21 was efficiently activated in control cells, owing to cell cycle exit. However p21 expression was downregulated in mutant cells compared to control cells. Flow cytometry analyses revealed increase in the percentage of cells in G1 phase in control cells during differentiation, which is not observed in mutant cells.

Conclusion: Results show that the absence of LAP1B is associated with defects in the reprogramming of pathways involves in myogenic differentiation. Failure to upregulate p21 expression in mutant cells and flow cytometry data provide evidence that LAP1B may have a role in cell cycle withdrawal during differentiation.

Bu çalışma TÜBİTAK (Proje no. 116S307) tarafından desteklenmiştir.



SS – 006 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

İskelet Kası Dejenerasyonu ve Fibrozis Sürecinde, Yeni Hücre Dışı Matris Bileşenleri, Düzenleyicileri ve Çözünebilir Faktörleri Tanımlamaya Yönelik Bütüncül Bir Biyoinformatik Meta-Analiz

Hasan Basri Kılıç, Çetin Kocaefe

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

Amaç: Hücre Dışı Matris (ECM) iskelet kası gelişimi ve onarımı için elzemdir. Edinilmiş patolojiler ve distrofi sürecinde ortaya çıkan kronik dejenerasyonun son noktası geri dönüşsüz ECM birikimi ile gelişen fibrozisdir. ECM bileşenleri gelişim ve hasar tamiri süreçlerinde farklı hücre kaynaklarından salgılanmaktadır. Bu çalışmada, çalışma ekibi tarafından üretilen ve açık erişimli transkriptom verilerinin kullanımı ile ortak ve farklı ECM bileşenlerinin, modulatorlerinin çözünebilir faktörlerin tanımlanabilmesine yönelik bir meta-analiz uygulanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada kullanılan transkriptom profilleri: i. Zamana karşı üç farklı myoblast farklılaşma verisi (C2C12 – in vitro), ii. Post-natal kronik dejenerasyon bulguları sergileyen mdx (distrofik) fare diyafram gelişim süreci, iii. Kardiyotoksin aracılıklı oluşturulan akut hasar tamiri süreci, iv. Tenotomi aracılığı ile oluşturulan kronik hareketsizlik modeli, v. Farklı distrofi örnekleri içeren hasta biyopsi örnekleri. Yukarıda sıralanan veri setlerinde güdümsüz, objektif analizler gerçekleştirilerek ortak ve farklı ifade sergileyen ECM elemanları ve düzenleyicileri aydınlatılmıştır. Ortak gen listeleri anlamlılık, ifade değişimi ve öncü dizi varlığına göre filtrelenmiştir.

Bulgular: Meta-analiz çalışması, farklılaşma ve rejenerasyon süreçlerine dahil olan ortak kolajenleri ortaya koymuştur. TGFbeta sinyali ile ifadesi düzenlenen ortak ECM düzenleyicileri (TIMPler, BMPler vd.) tanımlanabilmiştir. Bu bütüncül yaklaşım, pro-fibrotik değişiklikleri başlatan enflamatuvar olaylarla ilişkili genlerin tanımlanabilmesine olanak sağlamıştır. Söz konusu değişiklikler in vitro farklılaşma koşullarında gözlenmemektedir. Uygulanan güdümsüz kümeleme analizi, şimdiye dek, ECM gelişimi ve düzenlenmesi ile ilişkisi ortaya konmamış 108 yeni genin ifadesine dikkat çekmektedir.

Sonuç: Gerçekleştirilen bu meta-analiz, farklı türler tarafından paylaşılan ortak promotör elemanlarının tanımlanabilmesi için yeni biyoinformatik stratejilerinin geliştirilebilmesine olanak sağlamaktadır. TGFbeta dışında kalan bu yeni elemanlar, fibrozis gelişimini düzenleyen yeni transkripsiyonel düzenleyicilerin tanımlanmasına yardımcı olacaktır. İşlevsel doğrulama çalışmaları ile yeni keşfedilen genler, biyobelirteç veya ilaç hedefleri olamaya adaydır. Bu çalışma sonuçları yalnızca iskelet kasına özgü olmayıp, fibrotik dejenerasyon gözlenebilen tüm diğer organ ve sistemler için de geçerli olabilir.

A Holistic Bioinformatic Meta-analysis for the Identification of Novel Extracellular Matrix Components, Modulators and Soluble Factors Targeting Skeletal Muscle Degeneration and Fibrosis

Hasan Basri Kılıç, Çetin Kocaefe

Hacettepe University School of Medicine Medical Biology

Extracellular matrix (ECM) is the key for both development and regeneration of skeletal muscle. Chronic degenerative changes observed in dystrophies or acquired pathologies lead to ECM deposition where the endpoint is irreversible fibrosis. ECM components are secreted from multicellular sources during development or injury repair. Here we converge several transcriptomic data to delineate common and divergent ECM components, modulators and remodelers by using in-house and open access databases.

We used following transcriptome profiles: i. Multiple time-course differentiating C2C12 myoblasts (in vitro), ii. Post-natal time-course development of mdx (dystrophic) mouse diaphragm exhibiting chronic degeneration, iii. Cardiotoxin mediated acute injury repair, iv. Tenotomy mediated chronic immobilization, v. expression profiles of various human dystrophic muscle biopsy samples. Unsupervised analyzes are performed to elucidate common and divergent ECM elements and modulators in the above data-sets. Common gene-lists are further filtered based on significance, fold-change of expression and leader signals.

The meta-analysis revealed common subset of collagens acting on differentiation and regeneration. A common list of ECM modulators (TIMPs, BMPs, Etc.) could be identified that are regulated by TGFbeta signaling. This holistic approach helped to dissect and classify the genes related to inflammatory events guiding pro-fibrotic changes. Such events could not be observed under in vitro differentiation conditions. Unsupervised cluster analysis reveals 108 genes that were not previously attributed as an ECM component or relevant to ECM processing.

This meta-analysis will help to design new bioinformatics strategies to analyze the common or divergent promoter elements shared between species. Such elements beyond TGFbeta may help us to dissect new transcriptional regulators and pathways directing fibrosis. The newly identified genes may serve as biomarkers or drug targets following functional validation. These results may not solely be valid for the skeletal muscle but common mechanisms may also be extended to other organs and systems vulnerable to fibrotic degeneration.



SS – 007 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Kistik fibrozis hastalarında moleküler genetik araştırmalar ve yeni tanımlanan varyantların in-siliko analizi

İlksen Berfin Ekinci¹, Mina Hızal², Sanem Eşref², Nagehan Emiralioğlu², Uğur Özçelik², Ebu Yalçın², Deniz Doğru², Engin Yılmaz³, Nural Kiper², Didem Dayangaç Erden¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Kistik fibrozis (KF) akciğerlerdeki fonksiyon bozukluğu ile karakterize, en sık görülen kalıtsal hastalıklardan birisidir. Hastalıktan sorumlu gen olan Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR), klor ve bikarbonat taşınımından sorumlu kanal proteinini sentezlemektedir. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Göğüs Hastalıkları Ünitesi işbirliği ile kistik fibrozis tanısı almış 604 hastada (589 klasik KF, 3 KF ilişkili hastalık, 12 KF ilişkili metabolik sendrom) moleküler genetik çalışmalar yapılmaktadır. DNA dizi analizi yöntemi ile CFTR genindeki promotör, kodlanan bölgeler, ekzon-intron bağlantı bölgeleri ve 3'UTR bölgesi analiz edilmiş ve en sık görülen mutasyon F508del (%28.5) olarak saptanmıştır. Sırasıyla 1677delTA(%6.25), N1303K(%4.9), G85E(%4.56), 2789+5G-A(%4.31), 2183AA-G(%3.63), G542X(%3.21), CFTRdele2(%2.11), W1282X(%1.6), 3849+10kbC-T(%1.52), R334W(%1.26), E92K(%1.26) ve R347P(%1.18) bulunmuştur. Ayrıca literatürde daha önce tanımlanmamış on yeni varyant (Y84C, L570X, L967X, T788R, 2471delG, 3090del7, 3090del4, 3609delT, 3750delA, 4444delC) saptanmıştır. Varyantların, CFTR proteinine etkisini belirlemek amacıyla; HOPE ve SNPeff4.0 kullanılarak üç boyutlu modellemesi yapılmıştır. Ayrıca SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster, SNAP-2 ve MutPred Splice in siliko tahmin programları kullanılarak varyantların CFTR proteini üzerindeki olası hastalık yapıcı etkileri belirlenmiştir. Delesyon sonucu çerçeve kayması ve erken dur kodonu görülen 2471delG, 3090del7, 3090del4, 3750delA, 4444delC ile nokta mutasyonu sonucu erken dur kodonuna sebep olan L570X ve L967X MutationTaster ile hastalığa neden olan varyantlar olarak belirlenmiştir. Fonksiyonel etki ve evrimsel korunmuşluğu kullanan PolyPhen-2 ve SNAP2 ile protein dizi benzerliğini temel alan SIFT kullanılarak; 3609delT (0.974) ve Y84C (0.965) hastalığa neden olan, T788R ise nötral (0) varyantlar olarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda protein birikim ve stabilitesini analiz eden SNPeff4.0 ve FoldX ile, Y84C varyantının, amiloid oluşturma eğiliminin olduğunu ve protein stabilitesini azalttığı saptanmıştır. İn-siliko analizler sonucunda elde

ettiğimiz ön verileri içeren bu çalışmanın devamında, hasta örneklerini kullanarak yeni varyantların RNA ve protein üzerindeki fonksiyonel etkilerinin araştırılması planlanmaktadır. CFTR genindeki mutasyonların tanımlanması ile kişiselleştirilmiş ve öngörülsele tip kavramının uygulanması mümkün olabilecektir.

Molecular genetic studies in cystic fibrosis patients and in-silico analysis of novel variants in the CFTR gene

İlksen Berfin Ekinci¹, Mina Hızal², Sanem Eşref², Nagehan Emiralioğlu², Uğur Özçelik², Ebu Yalçın², Deniz Doğru², Engin Yılmaz³, Nural Kiper², Didem Dayangaç Erden¹

¹Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Ankara

²Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Child Health and Diseases, Ankara

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, İstanbul

Cystic fibrosis (CF) is one of the most common genetic diseases characterized by dysfunction in lungs. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) gene which causes the disease, synthesizes channel protein responsible from transport of chloride. Molecular genetic studies were carried out at Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Medical Biology in collaboration with Pediatric Chest Diseases Unit in 604 patients (589 CF, 3 CF-RD, 12 CF-CRTMS). DNA sequencing method was used to analyze the promoter, coding regions, exon-intron boundaries and 3'UTR of CFTR gene. The most common mutation was detected as F508del(28.5%). 1677delTA(6.25%), N1303K(4.9%), G85E(4.56%), 2789+5G-A(4.31%), 2183AA-G(3.63%), G542X(3.21%), CFTRdele2(2.11%), W1282X(1.6%), 3849+10kbC-T(1.52%), R334W(1.26%), E92K (1.26%) R347P(1.18%) were detected respectively. In addition, ten novel variants (Y84C, L570X, L967X, T788R, 2471delG, 3090del7, 3090del4, 3609delT, 3750delA, 4444delC) were described for the first time. HOPE and SNPeff4.0 were used for 3D modelling to determine the effects of variants on CFTR protein. Also, probable effects of variants on CFTR protein were determined with SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster, SNAP-2 and MutPred Splice in-silico prediction programs. 2471delG, 3090del7, 3090del4, 3750delA, 4444delC deletions, which causes frameshift and premature stop codon, were described as disease causing by MutationTaster. L570X and L967X, which causes premature stop codon as a result of point mutation, were also described as disease causing. PolyPhen-2, SNAP2 which evaluate functional effects and evolutionary conservation parameters and SIFT which evaluates protein sequence homology; describe 3609delT(0.974), Y84C(0.965) as disease causing and T788R as neutral(0) variants. SNPeff4.0



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 007 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

and FoldX which analyze protein aggregation and stability, determined Y84C variant as having tendency to form amyloid and reducing protein stability. By using the preliminary data obtained from in-silico analysis, we are planning to investigate the functional effects of novel variants at the RNA and protein level using patient samples. Identification of mutations in CFTR gene will allow application of personalized and precision medicine concept.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 008 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Çocuklarda TAGAP geni rs1738074 polimorfizmi ile Çölyak hastalığı riski arasındaki ilişkinin araştırılması

Melek Pehlivan¹, Tülay K. Ayna², Maşallah Baran³,
Mustafa Soyöz², Aslı Ö. Koçyiğit², Burcu Çerci², İbrahim
Pirim²

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu, İzmir

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, İzmir

³İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Çölyak hastalığı (ÇH), buğday ve tahıllardan glutenin alınmasıyla tetiklenen ince bağırsağın inflamatuvar bir hastalığıdır. TAGAP geni, Rho GTPaz aktivatör protein süper ailesini kodlayarak, T hücre aktivasyonunda önemli rol oynamaktadır. Son yıllarda, GWAS dahil olmak üzere birçok genetik çalışma TAGAP gen polimorfizmlerinin ÇH duyarlılığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, çocuk Çölyak hastalarında TAGAP genindeki rs1738074 tek nükleotid polimorfizminin ÇH riski üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya ÇH tanısı alan 127 çocuk hasta ve 100 sağlıklı birey dahil edilmiştir. DNA izolasyonları gerçekleştirilen örneklerin saflık dereceleri kontrol edildikten sonra hasta ve kontrol gruplarında genotip frekanslarını belirlemek için Allele Özgü PCR yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen veriler IBM SPSS 25.0 istatistik programında değerlendirilmiştir.

Bulgular: Hastaların %84,2'sinde (n=107) C allelinin, %45,6'sında (n=58) T allelinin olduğu saptanmıştır. Kontrol grubunda ise sağlıklı bireylerin %84'ünde (n=84) C alleli, %50'sinde (n=50) ise T allelinin varlığı gözlenmiştir. Hastaların TT, TC, CC genotip frekansları sırasıyla %15,7, %30 ve %54,3, sağlıklı bireylerin ise %16, %34 ve %50 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında allel ve genotip frekansları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p>0.05).

Sonuç: TAGAP rs1738074 polimorfizminin, Rho-GTPaz döngüsünde GTPaz aktivitesini arttırabileceği, böylece ÇH'nin gelişimini tetikleyeceği bildirilmiştir. Literatürde farklı ülke popülasyonlarında rs1738074 polimorfizmi ile ÇH riski ilişkilendirilirken, sonuçlarımıza benzer hastalıkla ilişkili görülmeyen popülasyon çalışmaları da mevcuttur. Türkiye'deki çocuk Çölyak hastalarıyla TAGAP genindeki rs1738074 T/C tek nükleotid polimorfizmi arasındaki ilişkinin ilk olarak araştırıldığı çalışmamızda hastalık ile çalışılan polimorfizm arasında ilişki bulunamamıştır.

Investigation of the association between rs1738074 polymorphism in TAGAP gene and Celiac disease risk in children

Melek Pehlivan¹, Tülay K. Ayna², Maşallah Baran³,
Mustafa Soyöz², Aslı Ö. Koçyiğit², Burcu Çerci², İbrahim
Pirim²

¹İzmir Katip Çelebi University Vocational School of Health
Services, İzmir

²İzmir Katip Çelebi University Faculty of Medicine, Department
of Medical Biology, İzmir

³İzmir Katip Çelebi University Faculty of Medicine, Department
of Child Health and Diseases, İzmir

Objective: Celiac disease (CD) is an inflammatory small-intestine disease triggered by gluten uptake from wheat and cereals. TAGAP gene plays an important role in T cell activation by coding Rho GTPase activator protein superfamily. Recently, a number of studies including GWAS have showed that TAGAP gene polymorphisms were associated with CD susceptibility. In the present study, the effect of rs1738074 single nucleotide polymorphism in the TAGAP gene on the risk of CD was evaluated in pediatric CD patients.

Materials-Methods: In this study, 127 pediatric patients diagnosed with CD and 100 healthy individuals were included. After DNA isolation and their purity control, allele specific PCR method was used to determine genotype frequency. The results were evaluated by IBM SPSS 25.0 Statistic Software Program.

Results: It was determined that 84.2% (n=107) of the patients had C allele, whereas 45.6% (n=58) had T allele. Of the individuals in control group, 84% (n=84) had C allele, whereas 50% (n=50) had T allele. The genotype frequencies of TT, TC, and CC in patients were 15.7%, 30% and 54.3%, whereas in healthy individuals were 16%, 34% and 50%, respectively. There were no significant difference in the genotype and allele frequencies between the patient and control groups (p>0.05).

Conclusion: It was reported that TAGAP rs1738074 polymorphism may increase GTPase activity during Rho-GTPase cycle and thus, it may promote development of CD. Although the CD risk is associated with rs1738074 polymorphism in different country populations in the literature, there are also population studies compatible with our results. In our study, which investigated the association between pediatric celiac patients and rs1738074 T/C single nucleotide polymorphism in TAGAP gene for the first time in Turkey, there was no association between the polymorphism and the disease risk.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 009 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Diyetle Oluşturulmuş Diabetes Mellitus Sıçan Modelinde Resveratrol ve Vitamin D'nin Karaciğer Üzerine Etkileri

Merve Anapalı¹, Fatma Kaya Dağıstanlı², Turgut Ulutin²

¹Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Amaç: Bu çalışmada yüksek fruktoz diyeti ve düşük doz streptozotocin (STZ) uygulaması ile oluşturulan Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) modelinde resveratrol, vitamin D ve kombin resveratrol/vitamin D tedavisinin karaciğer dokusunda inflamasyon, endoplazmik retikulum (ER) stresi, apoptoz ve proliferasyon üzerine etkisi araştırıldı.

Gereç-Yöntem: Her grupta 7 adet 8 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçan olmak üzere 8 deney grubu oluşturuldu. Diyabet gruplarına 2 hafta süre ile %10'luk fruktoz uygulaması yapıldı. 2. haftanın sonunda tek doz streptozotocin enjeksiyonu (40 mg/kg) yapıldı. Ardından 3 hafta süreyle %10'luk fruktoz diyeti uygulanarak T2DM modeli oluşturuldu. 5. haftanın sonunda ilgili deney gruplarındaki sıçanlara resveratrol (1 mg/kg/gün, i.p), vitamin D (oral 170 IU/hafta) ve resveratrol/vitamin D kombin uygulaması yapıldı. 9. haftanın sonunda sıçanlar kontrol grupları ile beraber sakrifiye edilerek karaciğer dokuları alındı. Karaciğer doku kesitlerine PCNA, NF-κB, TNF-α, IL-6, IL-1β, GRP78 ve Kaspaz-3 antikorları kullanılarak immünohistokimya yöntemi uygulandı. Elde edilen tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Tedavi uygulanmayan diyabet kontrol (F) grubunun STZ uygulamasının ardından deney sonuna kadar açlık kan şekeri değerleri yüksek giderken tedavi uygulanan FR, FD ve FDR gruplarında açlık kan şekerinin düştüğü saptandı. F grubunda NF-κB, TNF-α, IL-6, IL-1β, GRP78 ve Kaspaz-3 proteinlerinin ekspresyonlarının diğer gruplara göre anlamlı olarak yükseldiği saptandı (p<0.001). Resveratrol, vitamin D ve kombin tedavilerinin ise bu proteinlerin ekspresyonlarını anlamlı olarak azalttığı saptandı (p<0.001).

Sonuç: Bu çalışma ile Wilson ve İslam'ın Tip 2 diyabet modeli modifiye edilerek diyabet tedavisinin araştırılmasında kullanılmak üzere yeni bir model geliştirildi. Resveratrol ve vitamin D'nin, inflamasyon ve ER stresi üzerine benzer etkileri olduğu saptandı. Resveratrol/vitamin D kombin tedavisinin kan şekerini düşürmede, inflamasyon, ER stresi ve apoptozu önlemede daha etkili olduğu sonucuna varıldı.

Effects of Resveratrol and Vitamin D on Liver in Diet-induced Diabetes Mellitus Rat Model

Merve Anapalı¹, Fatma Kaya Dağıstanlı², Turgut Ulutin²

¹Ataturk University Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Erzurum

²Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Istanbul

Objective: In this study, we researched that effect of resveratrol and vitamin D treatment on liver endoplasmic reticulum stress, inflammation, apoptosis and proliferation in fructose and streptozotocin induced T2DM model

Materials-Methods: In our study, 8-week-old male Sprague-Dawley rats were randomly subdivided into 8 groups of 7 animals in each group. T2DM groups were supplied with 10% fructose solution ad libitum and after 2 weeks fructose fed rats were injected streptozotocin (40 mg/kg bw.). Then supplied with 10% fructose solution for 3 weeks. At the end of 5 weeks related-group rats were treated with resveratrol (1 mg/kg/day bw), vitamin D (oral 170 IU/week) or resveratrol (1 mg/kg/day bw) and vitamin D (oral 170 IU/week) for 4 weeks. At the end of 9 weeks rats were sacrificed and liver tissues were taken with ketamin/ksilazin anesthesia. For histological evaluation, immunopositivity scoring was performed by liver of PCNA, NF-κB, TNF-α, IL-6, IL-1β, GRP78 and Caspase-3 proteins expression levels of these 7 proteins by immunohistochemical staining method. All findings were statistically analyzed.

Results: After STZ injection, fasting blood glucose was high in fructose control group in contrast to others. In diabetic group PCNA, NF-κB, TNF-α, IL-6, IL-1β, GRP78 and Caspase-3 were higher than other groups (p<0,001). Resveratrol and vitamin D combined treatment significantly decreased expression of these proteins (p<0,001).

Conclusion: A new T2DM model was developed with this study by modifying Wilson-Islam T2DM model. We suggest that resveratrol and vitamin D have same effects on inflammation and ER stress. Resveratrol and vitamin D are effective on inflammation, ER stress, apoptosis and fasting blood glucose.



SS – 010 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

HNF1A transkripsiyon faktörünün hücre çekirdeğine taşınmasından sorumlu importin α alt grubunun tespit edilmesi ve HNF1A üzerindeki nuclear lokalizasyon sinyallerinin araştırılması

Özlem Yalçın Çapan¹, Fareed Mohammed Ali Fareed²,
Barbaros Nalbantoğlu²

¹*İstanbul Arel Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul*

²*Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Bölümü, İstanbul*

Amaç: MODY (Maturity onset of diabetes of youth) diyabetin tek gene bağlı bir alt grubu olup en sık görülen tipi MODY3'tür. MODY3 hastalarında transkripsiyon faktörü HNF1A geninde mutasyonlar tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda mutant R271W ve S345Y HNF1A proteinlerinin hücre çekirdeğine lokalize olmalarının hasarlı olduğu tespit edilmiştir. Importin α taşıma reseptör ailesi, hücre çekirdeğinde görevli proteinlerin hücre çekirdeğine taşınmasından sorumludur. Bu proteinler kargo proteinlerine NLS (Nuclear localization signal) motifleri üzerinden bağlanmaktadır. Klasik NLS motifleri bazik amino asitler içermesine rağmen, klasik olmayan NLS motiflerinin de bulunduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın ilk amacı, HNF1A transkripsiyon faktörünün hücre çekirdeğine taşınmasından sorumlu importin α alt grubunun tespit edilmesidir. İkinci amacı ise MODY hastalarında tespit edilen ve hücre çekirdeğine lokalizasyonu hasarlı mutant HNF1A proteinleri (R271W ve S345Y) ve importin α alt grubu arasındaki etkileşimin araştırılmasıdır. R271W mutasyonu klasik NLS motifleri S345Y mutasyonu ise klasik olmayan NLS içerisinde bulunmaktadır.

Gereç-Yöntem: Importin α proteinin üç farklı alt grubundan seçilen proteinlerle (fare homolog Kpna2, 4 and 6) yabancı ve mutant HNF1A arasındaki etkileşim ko-immünoçöktüme (Ko-IP) yöntemiyle araştırılmıştır. Bu etkileşimi doğrulamak için fare pankreas hücrelerinde (Min6) tespit edilen importin α proteinini siRNA kullanılarak susturulmuş ve immunokimyasal boyama çalışmasıyla HNF1A proteinin hücre içindeki lokalizasyonu araştırılmıştır.

Bulgular: Yabancı tip ve importin α alt grupları arasındaki Ko-IP çalışmaları, HNF1A transkripsiyon faktörü ve importin α proteinleri arasındaki en güçlü bağlanmanın fare Kpna 6 (insan importin $\alpha 7$) ile olduğunu göstermiştir. Kpna6 proteinin siRNA kullanılarak susturulması, HNF1A proteinin hücre çekirdeğine lokalizasyonunu %10 azaltmıştır. MODY3 hastalarında tespit edilmiş olan R271W ve S345Y mutant HNF1A proteinleri ve Kpna6 arasındaki Ko-IP çalışmaları da, yabancı tipe kıyasla Kpna6 proteinini ile çok daha az etkileşim olduğunu göstermiştir.

Sonuç: Çalışmanın sonuçları HNF1A transkripsiyon faktörünün hücre çekirdeğine taşınma yolağının ve HNF1A protein üzerindeki nuclear lokalizasyon sinyallerinin anlaşılmasına ve MODY3 hastalarında hastalığa sebep olan mutasyonların moleküler patogenezinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktadır.

Identification of the importin α subtype that is responsible for the import of HNF1A transcription factor into the nucleus and analysis of nuclear localization signal on HNF1A protein

Özlem Yalçın Çapan¹, Fareed Mohammed Ali Fareed²,
Barbaros Nalbantoğlu²

¹*Department of Molecular Biology and Genetics, İstanbul Arel University, İstanbul, Turkey*

²*Department of Chemistry, Yıldız Technical University, İstanbul, Turkey*

Objective: Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is a monogenic subtype of diabetes mellitus. The most common type is MODY3 that is associated with mutations in transcription factor gene, HNF1A. In previous studies R271W and S345Y mutant HNF1A were found to be defective in nuclear localization in MODY patients. Importin α receptor family are responsible for translocating proteins into the nucleus. Importin proteins recognize and bind to nuclear localization signal (NLS) motifs on cargo proteins. Although classic NLS motifs are known to consist of basic amino acids, non-classical NLS motifs were also reported. One of the purposes of the study is to identify the importin α subgroup which is responsible for the transport of HNF1A protein into the nucleus. Second purpose is to analyze the interaction between predetermined importin α subgroup and mutant HNF1A proteins (R271W and S345Y). R271 is located in a classical NLS while S345 in a non-classical NLS region of HNF1A.

Materials-Methods: The interactions of wild type and mutant HNF1A proteins with the three candidate mouse homolog importin α proteins (Kpna2, 4 and 6) were evaluated by co-immunoprecipitation (Co-IP) technique. To confirm this interaction, specific importin α protein was knockdown by siRNA in mouse pancreatic cells (MIN6) and the location of HNF1A was analyzed by immunochemical staining techniques.

Results: Co-IP studies with wild type HNF1A and importin α subgroups revealed that strongest interaction was with mouse kpn6 protein. When Kpna6 is silenced by siRNA treatment, there is 10% reduction in the nuclear localization of HNF1A protein. Co-IP studies with mutant HNF1A proteins (R271W and S345Y) and Kpna6 showed there is a reduced interaction compared to the wild type.

Conclusion: The results of the study clarify the molecular pathway of nuclear import and nuclear localization signals of HNF1A protein and molecular pathogenesis of HNF1A mutations in MODY3 patients.

Bu çalışma Tübitak (Proje no: 116Z564) tarafından desteklenmiştir.



SS – 011 SÖZLÜ BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

STOX1 Geni Y153H Mutasyonu Preeklamsi ile ilişkili değildir

Nilgün Çekin

Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Sivas, Türkiye

Amaç: Dünya çapında özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde yılda yaklaşık 600.000 kadın preeklamsi nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Preeklamsi etiyolojisi tam anlaşılamamakla birlikte, genetik yatkınlık, anormal plasantasyon, immunolojik yetmezlik, inflamasyon, oksidatif stress ve endotel disfonksiyonu preeklamsi nedenleri arasındadır. Son yıllarda transkripsiyon faktörü STOX 1'in hastalığın genetik formuyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu faktör oksidatif stress, inflamasyon ve hücre döngüsü gibi preeklamside rol oynayan pek çok yolda etkin bir proteindir. Farklı populasyonlarda STOX1 geninin ikinci ekzonunda bulunan Y153H variasyonunun ile preeklamsiyle ilişkisi konusunda tartışmalı sonuçlar vardır.

Gereç-Yöntem: Bu nedenle, bu çalışmada STOX1 Y153H mutasyonu ile preeklamsi arasındaki ilişki 100 preeklamtik Türk hastada ve 100 sağlıklı hamile kadında araştırılmıştır. Kan örnekleri hasta ve sağlıklı bireylerde alınmış, DNA izolasyonu yapılmış ve DNA dizi analizi ile sekanslanmıştır.

Bulgular: İstatistiksel analiz Y153H mutasyonu ile preeklamsi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir ($p > 0.15$). TC ve CC genotiplerinin kontrollerdeki dağılımı 50 ve %14 iken, hastalarda 53 ve %17'dir. Demografik verilerin analizine göre, genç yaş, yüksek BMI ve ilk hamilelikler preeklamsi için risk faktörüdür ve preeklamsi genellikle premature ve sezeryan doğumlara sebep olur.

Sonuç: Bu sonuçlara göre, STOX1 geni Y153H mutasyonu Türk popülasyonu için preeklamsiyle ilişkili değildir. Preeklamsi ile STOX1 ilişkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için diğer polimorfizmlerin incelenmesi ve hastalık şiddeti bazlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

STOX1 Gene Y153H Mutation Is Not Associated with Preeclampsia

Nilgün Çekin

Cumhuriyet University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology Sivas, Turkey

Objective: Almost 600.000 women especially in low- and mild-income countries lost their life worldwide because of preeclampsia. Although PE etiology is still unknown, genetic susceptibility, abnormal placentation, immunological incompatibility, inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction are among the cause of PE. Recently, a transcription factor, STOX1 gene was found to be directly related to the genetic form of the disease. This particularly effective in many pathways such as oxidative stress, inflammation and cell cycle that are suggested to play roles in PE. There are controversial results regarding the relationship of Y153H variation in the second exon of STOX1 gene and PE in different populations. Moreover there is no study investigating the STOX1 gene mutation in Turkish population.

Materials-Methods: For this reason, we investigated the association between STOX1 Y153H mutation in 100 Preeclamptic Turkish patients and 100 healthy pregnant women. Blood samples were taken from both patients and healthy controls, DNA was isolated and then used in DNA sequencing.

Results: Statistical analysis showed that there is no significant association between Y153H mutation and PE ($p > 0.15$). While TC and CC genotypes distribution in controls were 50 and 14% respectively, in patients group they were 53 and 17% respectively. According to analysis of demographic data, young age, high BMI and first Labour are risk factor for preeclampsia and preeclampsia usually causes premature and caesarean deliveries.

Conclusion: Based on these results, STOX1 Y153H mutation does not appear to be susceptible to PE at least for Turkish population. For the better understanding of the relationship between STOX1 and preeclampsia, further research is needed, including investigating of other polymorphisms and disease severity-based analyzes.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 082 SÖZLÜ BİLDİRİ / GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ

Pluripotent kök hücre temelli kardiyomiyositlerin ritim bozukluğu tedavisine yönelik in vivo incelenmesi

Gizem Örs¹, Mehmet Uğurcan Turhan², Gökçe İlayda Söztekin¹, Esra Çağavi³

¹*Istanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Yüksek Lisans Programı, İstanbul, Türkiye*

²*Istanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıp Lisans Programı, İstanbul, Türkiye*

³*Istanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye; İstanbul Medipol Üniversitesi Regeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye; İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Klinikte pediatrik ve erişkin yaş grubunda yaklaşık 1:2000 insidansında rastlanılan Uzun QT Sendromu (UQTS), kalp kası hücrelerinin aksiyon potansiyeli repolarizasyon fazını ağırlıklı olarak etkileyen bir ritim bozukluğudur. Kardiyomiyositlerde K⁺ kanalını kodlayan KCNQ1 genindeki mutasyonlar iyon iletiminde bozukluklara neden olmakta ve bu durum hastalardan alınan elektrokardiyografi (EKG) kayıtlarında QT aralığından uzama ile karakterize UQTS Tip-1 olarak tanımlanmaktadır. Yaptığımız çalışmada; UQTS Tip-1'i faredede modellemeye olanak sağlayan 2 farklı transgenik soy kullanılarak hücre transplantasyonunun aritmi tedavisinde kullanım potansiyeli literatürde ilk olarak değerlendirilmiştir. Kcnq1^{A340E/A340E} ve Kcnq1^{+/-} transgenik fare modellerinde kalbin apeks bölgesinden vahşi tip embriyonik kök hücre temelli sağlıklı genotipte 1x10⁵ kardiyomiyosit enjeksiyonu yapılmıştır. Yapılan enjeksiyonun kalp fonksiyonu ve QT aralığındaki elektrofizyolojik etkilerini incelemek amacıyla hücre transplantasyonu öncesi ve sonrasındaki 4. ile 7. günde alınan EKG ölçümleri, SHAM kontrolleri ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular neticesinde, opere edilen aritmi modeli transgenik farelerin, %50'sinde düzenlenmiş QT (QTc) değerinde düşüşe bağlı olarak, transplantasyonun hastalık fenotipini iyileştirici etkisini göstermiştir. Post-operatif değerlendirmelerde, transgenik farelerin %30'unda QTc değerinin değişmediği tespit edilirken %20'sinde QTc değerinde artış gözlenmiştir. Klinikte hastalar arasında gözlenen elektrofizyolojik ve fenotip varyasyonlar ile tedaviye verilen cevabın çeşitliliği transgenik fare modellerinde de tespit edilmiştir. Operasyonun 7. ve 14. gününde yapılan immünohistokimyasal analizler, transplante edilen hücrelerin canlı olduklarını ve kardiyomiyosit belirteci olan kardiyak Troponin T proteinini ürettikleri gösterilmiştir. Bu çalışma ile UQTS Tip-1 fare modellerinde hücresel tedavinin aritmi bulguları üzerindeki etkisi ilk olarak incelenmiş ve önemli olarak iyileştirici etkileri tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmanın ortaya koyduğu bulgular ışığında gelecekte yapılacak kliniğe yönelik translatasyonel

çalışmalar, aritmilerin tedavisine yönelik yeni hücresel tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak sağlayabilir.

In vivo assessment of pluripotent stem cell derived cardiomyocytes in rhythm disorders

Gizem Örs¹, Mehmet Uğurcan Turhan², Gökçe İlayda Söztekin¹, Esra Çağavi³

¹*Istanbul Medipol University Institute of Health Sciences, Medical Biology and Genetics Master Program, Istanbul, Turkey*

²*Istanbul Medipol University Faculty of Medicine, Department of Medicine, Istanbul, Turkey*

³*Istanbul Medipol University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey; Istanbul Medipol University Faculty of Medicine, Regenerative and Restorative Medicine Research Center (REMER), Istanbul, Turkey; Istanbul Medipol University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul, Turkey*

Long QT Syndrome (LQTS) is a rhythm disorder that predominantly affects the repolarization phase of the heart muscle action potential in the pediatric and adult age groups. Mutations in the KCNQ1 gene encoding the K⁺ channel in cardiomyocytes may lead to ion conduction disorders characterized by the prolongation of the QT interval in electrocardiography (ECG) recordings from patients of LQTS Type-1. In this study; the potential therapeutic use of cell transplantation in arrhythmia have been evaluated in 2 different transgenic lines for the first time in the literature. Hearts of the Kcnq1^{A340E/A340E} and Kcnq1^{+/-} transgenic mouse strains were injected from the apex with 1x10⁵ wild type embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. In order to investigate the electrophysiological effects of injection on cardiac function and QT interval, ECG measurements taken before and after cell transplantation were compared with SHAM controls. Our findings reveal that, 50% of the operated transgenic mice showed the to a decrease in the corrected QT (QTc) compared to SHAM control, suggestive of amelioration of the disease phenotype after cell transplantation. Moreover, 30% of the transgenic mice did not show any change in QTc, while 20% showed an increase in QTc. The variety of response to treatment and electrophysiological and phenotype variations observed among patients in the clinic are likewise determined in the transgenic mouse models. Immunohistochemical analyzes of the transplanted cells on day 7 and 14 of operation showed that the transplanted cells were live and integrated in the heart muscle expressing cardiac troponin T protein. In the light of these findings, future translational studies may be designed to allow the development of new cell-therapy based approaches for clinical management of arrhythmias.

Bu araştırma TÜBİTAK 1003 Öncelikli Alanlar Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı tarafından 213S192 nolu Proje kapsamında desteklenmiştir.



SS – 083 SÖZLÜ BİLDİRİ / GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ

NK92, Anti-GD2 veya Anti-CD19 Kimerik Antijen Reseptör (CAR) Kodlayan NK92 hücre hatlarının cGMP Standartlarında Üretim Optimizasyon Verileri

Ömür Selin Günaydın, Muhammet Yılcı, Cihan Taştan,
Derya Dilek Kancağı, Utku Seyis, Mülazım Yıldırım,
Ercüment Ovalı

Acıbadem Sağlık Grubu, Acıbadem Labcell, İstanbul

Hücre tedavisi, kanser için uygulanan yoğun kemoterapi ve radyasyon tedavisine bir alternatiftir. NK hücreleri 1975'te T ve B hücrelerinden farklı bir hücre sınıfı olarak tanımlanmıştır. Doğal malign hücreleri öldürme yeteneğine sahiptir ve malign hücrelerin immüntakibinde rol oynar. Kanserde, adoptif immünoterapide doğrudan kullanım ve hematopoetik kök hücre naklinde greft-lösemi etkisini geliştirmek için büyük bir potansiyele sahiptir. Viral olarak enfekte olmuş, kötü huylu hücrelerin yok edilmesinde rol oynamaktadır. Ancak B hücre akut/kronik lösemiler, NK hücrelerine karşı direnç gösterebilmektedir. Kimerik antijen reseptörlerinin NK veya T hücrelerine dahil edilmesinin bu direnci aşabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada aktivasyon, sitotoksikite analizleri tamamlanan, NK hücre hattı olan NK92 ve iki farklı şekilde genetiği değiştirilmiş olan nöroblastom spesifik anti-GD2, B hücre malignitelerine spesifik anti-CD19 CAR-NK92 hücrelerinin cGMP standartlarında üretim metodlarının iyileştirilmesi amaçlanmıştır. T-300 flask, çok katlı flask, G-Rex flask ve biyoreaktör (GE Healthcare Xuri W25) kullanılarak hücrelerin proliferasyonu ve canlılık verileri değerlendirilmiştir. NK92 hücrelerinin T-300 flaskta 1.25bölünme/gün, çok katlı flaskta 0.36bölünme/gün, G-Rex flaskta 2.45 bölünme/gün, biyoreaktör kullanılarak ise 1.85 bölünme/gün hızına ulaştığı gösterilmiştir. Anti-GD2 CAR NK92 hücrelerinin T-300 flaskta 1 bölünme/gün, çok katlı flaskta 0.43 bölünme/gün, G-Rex flaskta 0.7 bölünme/gün, biyoreaktör kullanılarak ise 0.5 bölünme/gün hızına ulaştığı gösterilmiştir. Anti-CD19 CAR-NK92 hücrelerinin T-300 flaskta 2 bölünme/gün, biyoreaktör kullanılarak ise 1.25 bölünme/gün hızına ulaştığı gösterilmiştir.

En etkin üretim metodlarının G-Rex ve biyoreaktör olduğu gözlemlenmiştir. Standardizasyon, iş gücü, iş saati ihtiyacı, üretim datasının arşivlenmesi, otomasyon sürecinin kontrolü, kullanım kolaylığı, maliyet etkinliği ve ürün güvenliği açısından değerlendirildiğinde biyoreaktör ile kültür sürecinin cGMP yönetiminde daha üstün olduğu görülmüştür. Acıbadem Labcell Hücre Laboratuvarı olarak seri üretimde kullanılmaya başlanmıştır.

Production Optimization Data in cGMP Standards of NK92 cell lines encoding NK92, Anti-GD2 or Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor (CAR)

Ömür Selin Günaydın, Muhammet Yılcı, Cihan Taştan,
Derya Dilek Kancağı, Utku Seyis, Mülazım Yıldırım,
Ercüment Ovalı

Acıbadem Healthcare Group, Acıbadem Labcell, İstanbul

Cell therapy is an alternative to cancer-intensive chemotherapy and radiation therapy for cancer. NK cells were described in 1975 as a class of cells different from T and B cells. It has the ability to kill natural malignant cells and plays a role in immune monitoring of malignant cells. It has great potential to improve the effect of graft-leukemia in cancer, direct use in adoptive immunotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. It is involved in the destruction of virally infected, malignant cells. However, B cell acute/chronic leukemias may be resistant to NK cells. The inclusion of chimeric antigen receptors in NK or T cells is thought to exceed this resistance. The aim of this study was to improve the production methods in the cGMP standards of the NK cell line NK92, which was accomplished activation, cytotoxicity analyzes, and neuroblastoma-specific anti-GD2, NK92 cell line that is B cell malignancies specific anti-CD19 CAR-NK92. Cell proliferation and viability data were evaluated using T-300, multi-layer and G-Rex flask and bioreactor.

It has been demonstrated that NK92 cells reached 1.25division/day in T-300 flask, 0.36division/day in a multi-layer flask, 2.45division/day in G-Rex flask, and 1.85division/day using bioreactor. It was shown that anti-GD2 CAR NK92 cells reached 1 division / day in T-300 flask, 0.43division/day in multi-layer flask, 0.7division/day in G-Rex flask, and 0.5division/day using bioreactor. It was indicated that anti-CD19 CAR-NK92 cells reached 2division/day in the T-300 flask and 1.25division/day using the bioreactor.

It was observed that the most effective manufacturing method and bioreactor are G-Rex. When the standardization, labor, work hour requirement, archiving of production data, control of automation process, ease of use, cost-effectiveness, and product safety were evaluated, it was seen that the culture process with bioreactor was superior in cGMP management. Acıbadem Labcell Cell Laboratory has started to use bioreactor in mass production.



SS – 084 SÖZLÜ BİLDİRİ / GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ

Mezenkimal Kök Hücrelerin Ekstraselüler Salgılarının Kistik Fibrozisde Olası Terapötik Etkisi

Selda Ayhan, R Köksal Özgül

Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Metabolizma Bilim Dalı, Ankara

Kistik fibrozis (KF) epitelyal hücrelerin apikal yüzeyinde ifade edilen, cAMP-bağımlı bir klorür kanal proteinini kodlayan CFTR genindeki mutasyonlardan kaynaklanan bir otozomal resesif hastalıktır. En sık görülen mutasyonlardan olan $\Delta F508$ mutasyonu taşıyan hastalarda, CFTR proteininde işleme, iletim ve protein kararlılığı sorunları nedeniyle hastalık fenotipi ortaya çıkmaktadır. KF'in henüz kesin bir tedavisi olmamakla birlikte mevcut tedaviler sadece çeşitli semptomlara yöneliktir. Hücre tabanlı tedavilerde allojenik sağlıklı hücreler ve fonksiyonel CFTR ifade edecek şekilde tasarlanmış olog hücrelerin kullanımı çok daha etkili olmaktadır. Fakat bugüne kadar yapılan in-vivo çalışmalar sonucunda mezenkimal kök hücrelerin solunum yolu epitelyum hücrelerine farklılaşma etkinliklerinin oldukça düşük olduğu gösterilmiştir (0.01–0.025%). Kök hücrelerin kendilerinden ziyade kök hücreler tarafından üretilen ekstraselüler moleküllerin klinik uygulamalarda tedavi edici potansiyellerinin daha yüksek olabileceği düşüncesi kök hücre çalışmalarını bu alana yöneltmiştir. Bu amaçla gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda $\Delta F508$ mutasyonu taşıyan kistik fibrozis hücre hattı ile kemik iliği mezenkimal kök hücreleri (İKİ-MKH)'ni indirekt ortak kültüre ederek MKH salgılarının KF üzerine olası terapötik etkilerini araştırdık. KF ve MKH-indirekt ortak kültürlerde, MKH'lerden ekstraselüler salgıların geçişi için $1\mu m$ çapındaki süzgeçler kullanıldı. CFTR proteinini sağlıklı epitelyum hücrelerinde hücre membranında yerleşim gösterirken, $\Delta F508$ mutant allel taşıyan hücrelerde yanlış katlanma bozukluğundan dolayı endoplazmik retikulumdan çıkamayıp perinükleer yerleşim göstermektedir. Bu nedenle CFTR protein lokalizasyonunun analizinde akım sitometri ve immünofloresan işaretleme tekniği, hücre içi Cl^- testi için MQAE analizi kullanıldı. İmmün işaretleme bulguları ortak kültür sonrası CFTR proteininin perinükleer bölgeden membrana transfer olduğunu göstermiştir. MQAE bulguları ile hücre içi Cl^- çıkışının arttığı, membrana lokalize CFTR proteinlerinin fonksiyonel olduğu kanıtlandı. Çalışmamız KF'te yeni bir terapötik strateji olan "hücresiz rejeneratif tedavi" stratejilerinin kullanılabilirliğine dair önemli veriler sağlamaktadır. Kullandığımız bu tekniğin klinik uygulamalar için potansiyeli, KF tedavisinde günümüzde hali hazırda kullanılmakta olan olog yada allojenik MKH naklinden, gen tedavisinden yada daha ileri evre olan akciğer transplantasyonu yanında ileride kullanılabilecek yeni tedavi yaklaşımları geliştirilebilmesi için umut vadetmektedir.

TÜBİTAK-SBAG- 115S304 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Possible Therapeutic Effect of Extracellular Secretions of Mesenchymal Stem Cells on Cystic Fibrosis

Selda Ayhan, R Köksal Özgül

Hacettepe University, Institute of Child Health, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Metabolism

Cystic fibrosis (CF) is a autosomal recessive disorder due to mutations in the CFTR gene which is a cAMP-dependent chloride channel expressed on the apical side of epithelial cells. Most of the CF patients carry at least one $\Delta F508$ mutation, resulting in a CFTR chloride channel protein devoid of processing, gating and stability. CF is currently incurable and existing therapies are only directed to relieve various symptoms. Cell-based therapies are emerging as effective treatments because allogenic healthy cells and autologous engineered cells express functional CFTR gene. However, recent in vivo studies have shown that the efficiency of bone marrow stem cells to differentiate into airways epithelium is very low (0.01–0.025%). Recently it was proposed that extracellular molecules produced by stem cells rather than stem cells themselves may have higher therapeutic potential in clinical applications. We investigated the possible therapeutic effects of MSC secretions on CF by indirectly culturing the CF cell line carrying a $\Delta F508$ mutation together with bone marrow mesenchymal stem cells.

In indirect co-cultures of CF and MSCs, $1\mu m$ diameter inserts were used to be transferred of extracellular secretions of MSCs. While CFTR protein is localised in the cell membrane of healthy epithelial cells, it cannot uptake the endoplasmic reticulum and shows perinuclear localization due to misfolding of the mutant protein. Flow cytometry and immunofluorescence was used to monitor CFTR protein localization and MQAE analysis for intracellular Cl^- test were applied. Immune-labeling findings showed that the CFTR protein was transferred from the perinuclear region to the membrane after co-culture. In addition, our MQAE findings have proven that Cl^- uptake is increased and membrane-localized CFTR proteins are functional. Our study provides important evidence on the usability of "cell-free regenerative therapy" as a novel therapeutic strategy in CF.

This research study was supported by TÜBİTAK (Grant no: TÜBİTAK-SBAG 115S304).



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ KÖK HÜCRE



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 95 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin Diamond Blackfan Anemisi hastalığındaki rolünün aydınlatılması

Beren Karaosmanoğlu¹, Alper Muammer Kuşunel², Duygu Uçkan Çetinkaya³, Özlem Pelin Şimşek Kiper⁴, Fatma Gümrük⁵, Mualla Çetin⁵, Güneş Esendağlı², Şule Ünal⁵, Ekim Zihni Taşkıran¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre Bilimleri; Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre Bilimleri; Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Genetik Bilim Dalı, Ankara

⁵Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

Diamond Blackfan Anemisi (DBA) otozomal dominant kalıtım gösteren, eritrosit öncül hücre eksikliği ile karakterize olan bir kemik iliği yetmezliği sendromudur. Hastaların diğer kan hücreleri etkilenmez, sadece eritroid seride bir azalma görülür. Hastaların bir kısmında anemi fenotipine ek olarak kraniofasial bozukluklar gibi, kemik gelişim bozuklukları da görülebilir. Yapılan çalışmalarda hastaların yaklaşık %70'inde çeşitli ribozomal protein genlerinde meydana gelen mutasyonların hastalığa sebep olduğu ortaya çıkarılmıştır. Tüm doku ve hücrelerde ifade olan ribozomal proteinlerin haploetersizliğinde, hangi yollar üzerinden kemik iliği yetmezliği fenotipinin ortaya çıktığı henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, DBA hastalığının moleküler etiyolojisini aydınlatma adına kemik iliği kaynaklı kök hücreler sağlıklı donörlere ait hücrelerle karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. DBA hastalarına ait mezenkimal kök hücrelerin (MKH), sağlıklı bireylerinkine göre proliferasyon hızında azalma ve farklılaşma potansiyelinde eksiklik/gecikme olduğu gösterilmiştir. Transkriptom analizleri; DBA hastalarına ait MKH'lerde artmış bir inflamatuvar cevap olduğuna işaret etmiştir. Benzer inflamatuvar yanıt, kemik iliği kaynaklı mononükleer hücrelerinden elde edilen CFU-E kolonilerinin RNA profilinde de görülmüştür. DBA hastalığında eritroid seri alt tiplerinin bozulmuş olmasından dolayı, bu hastaların kemik iliğindeki eritroid seri alt tipleri incelenmiştir. İmmün fenotiplendirmesi ve hücre ayrıştırması yapılan bu hücrelerde eritroid seri alt tiplerinin yüzdelерinin, sağlıklı bireylere oranla değişmiş olduğu görülmüştür. Hücre ayrıştırması sonrası yapılan transkriptom analizlerinde ise, ribozom biyogenezinin maksimum düzeyde olduğu proeritroblastlar başta olmak üzere, farklı alt tiplerde hastalığa özgül transkriptomik imzalar keşfedilmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen bilgilerin sadece DBA değil, diğer kemik iliği yetmezlikleri ve ribozomopatiler için de kritik öneme

sahip olduğu düşünülmektedir. Kemik iliği kaynaklı hücrelerde yapılan omik seviyesindeki bilgiler sadece nadir hastalıklar için değil, kanser, farklılaşma biyolojisi ve immün regülasyon gibi önemli mekanizmaları aydınlatma adına önemli olacaktır.

Investigating the role of bone marrow stem cells in Diamond Blackfan Anemia

Beren Karaosmanoğlu¹, Alper Muammer Kuşunel², Duygu Uçkan Çetinkaya³, Özlem Pelin Şimşek Kiper⁴, Fatma Gümrük⁵, Mualla Çetin⁵, Güneş Esendağlı², Şule Ünal⁵, Ekim Zihni Taşkıran¹

¹Hacettepe University, Institute of Health Sciences Stem Cell Sciences, Faculty of Medicine Department of Medical Genetics, Ankara

²Hacettepe University, Cancer Institute, Department of Basic Oncology, Ankara

³Hacettepe University, Institute of Health Sciences Stem Cell Sciences; Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Pediatric Hematology, Ankara

⁴Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Pediatric Genetics, Ankara

⁵Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Pediatric Hematology, Ankara

Diamond Blackfan Anemia (DBA) is an autosomal dominantly inherited bone marrow failure characterized with a selectively reduction of erythroid precursors and progenitors. Other lineages are produced normally, however, only erythroid lineage production decreases. Some of the patients may have bone development defects, like craniofacial defects, in addition to anemia phenotype. In previous studies it is shown that approximately in 70% of the patients DBA is caused by the mutations of various ribosomal proteins (various ribosomal protein mutations). However, how the ribosomal proteins that express in all cells and tissues haploinsufficiency causes bone marrow failure phenotypes by which pathways is still unknown. In this study, in order to enlighten the molecular etiology of DBA, bone marrow derived stem cells were comparatively analyzed with healthy donor cells. A reduction in the proliferation rate and a delay in differentiation potential were shown on mesenchymal stem cells (MSCs) from the DBA patients. Transcriptomics analysis of the MSCs of the DBA patients indicated an inflammatory response. A similar inflammatory response is also observed from the RNA profiling of the CFU-E colonies, differentiated from the bone marrow mononuclear cells. Due to the reduction of erythroid lineage in DBA, the sub types of erythroid lineage are analyzed. After immune phenotyping and cell sorting of these cells, it is observed that the cell numbers of erythroid sub types were decreased compared to healthy individuals. Transcriptomics analysis following cell sorting, disease-specific transcriptomic signatures were discovered in different sub types, especially in proerythroblasts, which has the highest ribosome biogenesis rate. Outputs of this study will be beneficial not only for DBA, but also for other bone marrow failure



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 95 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

syndromes and ribosomopathies. Omics data obtained from bone marrow cells will be important in order to enlighten rare disorders and also for the critical mechanisms such as cancer, differentiation and immune regulation.

Bu sunum Dr. Beren Karaosmanoğlu'nun doktora tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçları içermektedir. Bu tez çalışması; Avrupa Birliği ERA-NET E-RARE çağrılarını kapsamında fonlanıp Tübitak tarafından desteklenmiş olan EuroDBA projesinin kök hücre ile ilişkili iş paketlerini kapsamaktadır (Proje No: 315S192).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 96 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

GBA (β -Glukozilseramidaz) - ilişkili Parkinson Hastalığı'nda İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücre (iPKH) Kaynaklı Dopaminerjik Nöron Modelleri

Gizem Önal¹, Gül Yalçın Çakmaklı², Bülent Elibol²,
Aysel Yüce³, Rejko Krüger⁴, Serap Dökmeci (emre)¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı,
Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatric Gastroenteroloji Ünitesi,
Ankara

⁴Lüksemburg Üniversitesi, Lüksemburg Sistem Biyotıp Merkezi,
Klinik ve Deneysel Nörobilim Grubu, Lüksemburg

β -Glukozilseramidaz enzimini kodlayan GBA genindeki mutasyonların, Gaucher Hastalığı'nın (GH) patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir. Son yıllarda, GBA mutasyonları ile Parkinson Hastalığı (PH) arasında önemli bir ilişki olduğu ve GBA mutasyonlarının PH için bugüne kadar bilinen en güçlü genetik risk faktörü olduğu tanımlanmıştır. Bu çalışmada, GBA mutasyonlarının PH patolojisiindeki rolünün açıklanabilmesi için, GBA mutasyonlarına sahip bireylerden indüklenmiş pluripotent kök hücre kaynaklı dopaminerjik nöron modellerinin elde edilmesi amaçlanmıştır.

GBA mutasyona sahip Gaucher hastaları, Gaucher hastalarının heterozigot GBA mutasyonu taşıyan aile bireyleri, GBA mutasyonu taşıyan ve taşımayan Parkinson hastaları ve sağlıklı bireylerden oluşan bir çalışma grubu oluşturulmuştur. Çalışma grubundaki bireylerden elde edilen deri fibroblastları, genoma entegre olmayan vektörlerle (OCT4, KLF4; L-MYC, SOX2 ve LIN28) epizomal yeniden-programlama tekniği kullanılarak iPKH'ler elde edilmiştir. iPKH'ler pluripotensi belirteçlerinin (Nanog, Oct, Sox2, Tra1-60 ve SSEA3) ve farklılaştırılan üç farklı germ tabakasına özgü belirteçlerin (Sox17, Brachyury ve Otx2) ifade analizi gerçekleştirilerek karakterize edilmiştir. Genomik bütünlük, tüm genom SNP genotipleme ile analiz edilmiştir. Elde edilen tüm iPKH'lerin, embriyonik kök hücre benzeri morfoloji sergilediği, pluripotensi ile ilişkili genleri ifade ettiği, her bir germ tabakasına farklılaşabildiği ve normal karyotip gösterdiği tespit edilmiştir. Karakterize edilen iPKH'ler, küçük moleküller (SB431542, Dorsomorphin, CHIR99021, Askorbik asit, Purmorphamine, dbcAMP) ve büyüme faktörleri (TGF β 3, GDNF, BDNF) kullanılarak dopaminerjik nöronlara farklılaştırılmıştır. Dopaminerjik nöronlar, TUBBIII ve TH belirteçleri ile karakterize edilmiştir. Her bir dopaminerjik nöron kültürü için farklılaşma protokolünün etkinliğinin % 10-20 arasında olduğu tespit edilmiştir.

Hastaya özgü iPKH'lerden elde edilen dopaminerjik nöron modelleri, GBA mutasyonları ve PH arasındaki

patolojik ilişkinin temel mekanizmalarının araştırılması için kullanılabilecek oldukça ümit vaadeden bir araçtır.

Induced pluripotent stem cell (iPSC) derived dopaminergic neuron models of GBA (β - Glucosylceramidase) associated Parkinson's disease

Gizem Önal¹, Gül Yalçın Çakmaklı², Bülent Elibol²,
Aysel Yüce³, Rejko Krüger⁴, Serap Dökmeci (emre)¹

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of
Medical Biology, Ankara

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of
Neurology, Ankara

³Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of
Pediatrics, Division of Pediatric Gastroenterology, Ankara

⁴University of Luxembourg, Luxembourg Center for Systems
Biomedicine (LCSB), Clinical and Experimental Neuroscience,
Luxembourg

Mutations in the GBA gene encoding β -glucosylceramidase enzyme are known to be implicated in the pathogenesis of Gaucher's disease (GD). In the recent years, a significant association between GBA mutations and Parkinson Disease (PD) has been discovered as the GBA mutations are the strongest genetic risk factor for PD known to date. In this study, we aimed to generate induced pluripotent stem cell derived dopaminergic neurons from subjects harboring GBA mutations to model the role of GBA mutations in PH pathology.

A group of subjects consisting of GD patients with GBA mutations, heterozygous GBA mutation carrier family members of GD patients, PD patients with and without GBA mutations, and healthy individuals were recruited. iPSCs were generated from human skin fibroblasts using episomal reprogramming with integration-free vectors (OCT4, KLF4; L-MYC, SOX2, and LIN28). iPSCs were characterized by analyzing the expression of pluripotency markers (Nanog, Oct, Sox2, Tra1-60, and SSEA3) and three germ-layer differentiation-specific markers (Sox17, Brachyury, and Otx2). Genomic integrity was analyzed by whole-genome SNP genotyping. All iPSC lines displayed embryonic stem cell-like morphology, expressed pluripotency-associated proteins, differentiated into each germ-layer, and exhibited normal karyotype. Validated iPSCs were differentiated into dopaminergic neurons using small molecules (SB431542, Dorsomorphin, CHIR99021, Ascorbic acid, Purmorphamine, dbcAMP) and growth factors (TGF β 3, GDNF, BDNF). Dopaminergic neurons were characterized by TUBBIII and TH markers. The efficiency of differentiation protocol for each line was between 10%-20%.

Patient-specific iPSC-derived dopaminergic neuron models are quite promising tool to understand fundamental mechanisms for the relationship between GBA mutations and PD.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 97 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Meme Kanseri Kök Hücrelerinde Elajik Asit İle İndüklenmiş miRNA'ların İfadesi ve Elajik Asidin Apoptoz Üzerine Etkisi

Hasan Onur Çağlar¹, Sunde Yılmaz Süslüer², Şebnem Kavaklı³, Mehmet Eraslan², Cumhuriyet Gündüz², Biray Ertürk⁴, Ferda Özkinay⁴, Ayfer Haydaroglu⁵

¹Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Amaç: Östrojen bağımlı meme kanseri tümör oluşumunda etkili miRNA'lar elajik asit (EA) uygulaması ile baskılanmaktadır. Bu çalışmada, MKKH'lerde EA-indüklenmiş apoptozun gösterilmesi ve EA uygulamasından sonra değişen miRNA ifade profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: EA'nın MKKH'lerdeki sitotoksik etkisi WST-1 testi ile incelendi. EA uygulamasından sonra apoptoz ve hücre döngüsü analizleri flow sitometri ile yapıldı. EA uygulamasından sonra, MKKH'lerin miRNA ifade profilleri RT-PCR miRNA array ile tanımlandı.

Bulgular: MKKH'ler üzerinde EA'nın sitotoksik etkisi saptandı. 48. ve 72. saatlerde EA'nın IC50 konsantrasyonu 24.8 µM'dı. EA, MKKH'lerde apoptozu indükledi. Bununla beraber, EA'nın 24., 48. ve 72. saat uygulamalarında S fazı bloğu gözlemlendi. Toplamda 84 miRNA geninin 76'sının ifade profili belirlendi. hsa-miR-125b-1-3p'nin ifadesi EA uygulanmasıyla 3.59 kat arttı.

Sonuç: Bu çalışmada, EA'nın MKKH'de apoptozu etkilemediği ve hsa-miR-125b-1-3p'in ifadesini arttırırken, başta hsa-miR-485-5p ve hsa-miR-328-3p olmak üzere diğer miRNA'ların ifadesinde düşmeye neden olduğu görüldü. Anormal miRNA ifade profili nedeniyle MKKH'lerin EA uygulamasına direnç gösterebileceği düşünüldü.

Aberrant miRNA Expression by Ellagic Acid Alters Apoptosis and Cell Cycle Regulation in Breast Cancer Cells and Breast Cancer Stem Cells

Hasan Onur Çağlar¹, Sunde Yılmaz Süslüer², Şebnem Kavaklı³, Mehmet Eraslan², Cumhuriyet Gündüz², Biray Ertürk⁴, Ferda Özkinay⁴, Ayfer Haydaroglu⁵

¹Ege University, Health Science Institute, Dept. of Stem Cell, Bornova, Izmir, Turkey

²Ege University, Medical Faculty, Dept. of Medical Biology, Bornova, Izmir, Turkey

³Ege University, Institute of Science and Technology, Dept. of Biotechnology, Bornova, Izmir, Turkey

⁴Ege University, Medical Faculty, Dept. of Medical Genetic, Bornova, Izmir, Turkey

⁵Ege University, Medical Faculty, Dept. of Radiation Oncology, Bornova, Izmir, Turkey

Objective: miRNAs which are associated with estrogen dependent tumorigenesis of breast cancer are suppressed by ellagic acid (EA) treatment. However, modulation of expression profiles of miRNAs in breast cancer stem cells (BCSCs) after EA treatment is still unclear.

Materials-Methods: Cytotoxic effects of EA on BCSCs were examined by WST-1 reagent test. Apoptosis and cell cycle analysis after EA treatment were detected by flow cytometry analysis. After EA treatment, miRNA expression profiles of BCSCs were determined by RT-PCR miRNA array.

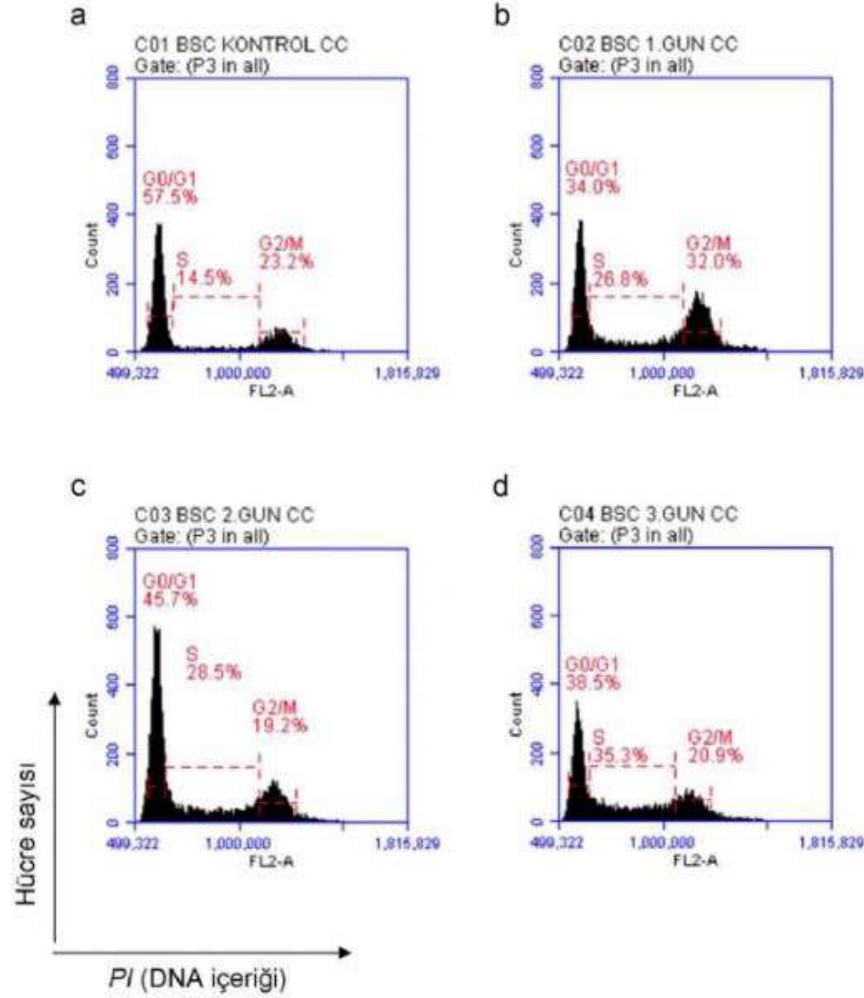
Results: Cytotoxic effect of EA on BCSCs was found. IC50 concentration of EA at 48th and 72nd hours was 24.8 µM. EA did not induce apoptosis in BCSCs. In addition, S phase arrest was observed at 24th, 48th, 72nd hours of EA treatment. Expression profiles of 76 of totally 84 miRNA genes were detected. Expression of hsa-miR-125b-1-3p was increased as 3.59 folds by EA treatment.

Conclusion: In this study, it was observed that EA leads to upregulated expression of hsa-miR-125b-1-3p in contrast to downregulated expression of all other miRNAs, especially hsa-miR-485-5p and hsa-miR-328-3p, and does not induce apoptosis in BCSCs.



SS – 97 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Elajik asidin meme kanseri kök hücrelerinde hücre döngüsü üzerine yaptığı etki
Effects of elagic acid on cell cycle in breast cancer stem cells



Elajik asit uygulanmayan hücreler (a) kontrol olarak kullanıldı. Elajik asidin 24 saat (b), 48 saat (c) ve 72 saat (d) uygulandığı çalışmada S fazı hücre yüzdeleri artmıştır.

Cells without elagic acid (a) were used as controls. In the study in which the elagic acid was applied for 24 hours (b), 48 hours (c) and 72 hours (d), S phase cell percentages were increased.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

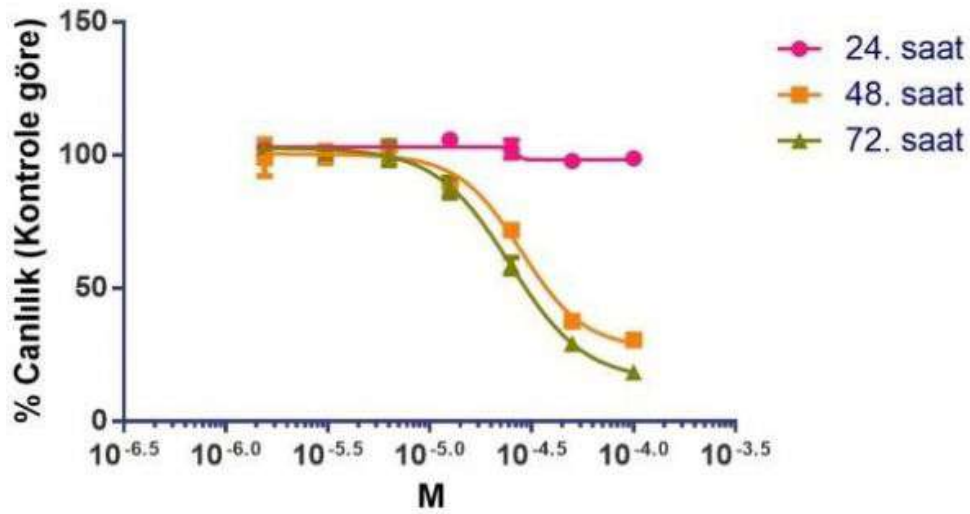
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 97 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Elajik Asit Uygulamaları
Elagic Acid Applications

Elajik asit uygulaması



Elajik asidin meme kanseri kök hücrelerinde 24., 48. ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkisi. Elajik asidin 48. ve 72. saatlerdeki IC50 konsantrasyonu 24.8 μ M'dir.

Elagic acid in breast cancer stem cells 24, 48 and 72 hours. The IC 50 concentration of Elagic acid at 48 and 72 hours is 24.8 μ M.



SS – 98 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Kemik İliği Mikroçevresinde Glikoliz Yoluğunun İdamesinde SPHK1 Geninin Rolü

Selda Ayhan¹, Emirhan Nemutlu², Sedef Kır², Duygu Uçkan Çetinkaya³, R. Köksal Özgül¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Metabolizma Bilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Kök Hücre Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara

Hematopoez tüm matür kan hücrelerinin üretildiği süreçtir. Kendini yenileme kapasitesine sahip hematopoetik kök hücreler (HKH), bulundukları kemik iliği mikroçevresinde farklılaşmadan sessiz kalırlar ve migrasyon, farklılaşma gibi hücrel mekanizmalar ile periferik kana çıkarlar. Son zamanlarda yapılan metabolik analizler kök hücrelerdeki bu yüksek plastisite özelliklerini sağlayan yada onları farklılaşmaya yönlendiren metabolitlerin keşfine yöneliktir. Bu amaçla yapılan metabolom çalışmaları sonucunda; hücre kaderinin belirlenmesinde, hücrel sinyalizasyon ve epigenetik regülasyon arasındaki metabolik akışın son derece önemli olduğu gösterilmiş ve kök hücre homeostazisi/farklılaşmasında enerji metabolizmasındaki plastisite ön plana çıkmıştır. Kök hücreler kendini yenileme kapasitelerini devam ettirebilmek için oksijen bağımsız anaerobik glikoliz yolunu kullanırken farklılaşan hücreler oksijene bağımlı trikarboksilik asit (TCA) döngüsü ile oksidatif fosforilasyon aracılığıyla enerji elde ederler. Bu amaçla çalışmamızda HKH'lerin sessiz kaldıkları kemik iliği mikroçevresi ile farklılaşmış çıktıkları periferik kan mikroçevresini karşılaştırdık. İlk defa sağlıklı insan hematopoetik kök hücre mikroçevresinde farklı nişlerin varlığını karşılaştırmalı metabolomik (GC-MS yöntemi) ve transkriptomik (RNA-seq yöntemi) analizlerle araştırdığımız çalışmalarımızda insan kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinde (İKİ-MKH) yüksek sfingolipit metabolizması ve SPHK1 gen ifadesi tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmalar kapsamında qPCR ile periferik kan mononükleer hücrelerindeki (PK-MNH) SPHK1 (Sfingozin Kinaz1), HIF1A (Hipoksiyle indüklenen faktör-1A), VHL (Von Hippel-Lindau) ve PHD (Prolif hidrosilaz domain) gen ifade düzeyleri İKİ-MKH'leri ile karşılaştırmalı analiz edildi ve MKH'lerde SPHK1 gen ifade düzeyinin önemli oranda yüksek olduğu saptandı. SPHK, ilk olarak tümör hücre büyümesi, canlılığı, invazyonu, vasküler maturasyonu ve anjiyogenezisinde majör regülatör olarak tanımlanmış ve birçok anti-kanser tedavide inhibisyonu hedeflenmiş önemli bir onkogendir. Ayrıca SPHK1 aktivitesinin, düşük oksijen koşullarında uyarıldığı ve transkripsiyonunun arttığı da çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu çalışma sonucunda da kemik iliği mikroçevresindeki glikoliz yolunun idamesini sağlayan hipoksinin ana modülatörlerinden birisi olarak SPHK'nın rolü gösterilmiştir. Çalışmamızın

bulguları halen tam olarak başarılamamış olan HKH ekspansiyonu, in vitro kök hücre niş modellemesi, kanser mikroçevresi gibi araştırma alanlarına katkı sağlayacak niteliktedir.

Bu çalışma TÜBİTAK-SBAG- 213S006 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Role of SPHK1 Gene for Maintenance of the Glycolysis Pathway in the Bone Marrow Microenvironment

Selda Ayhan¹, Emirhan Nemutlu², Sedef Kır², Duygu Uçkan Çetinkaya³, R. Köksal Özgül¹

¹Hacettepe University, Institute of Child Health, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Metabolism

²Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Ankara

³Hacettepe University, Center For Stem Cell Research and Development, Ankara

Hematopoiesis refers to the process of producing all mature blood cells. Hematopoietic stem cells (HSCs), capable of self-renewal, remain silent in the bone marrow microenvironment and they migrate to the peripheral blood and differentiate through different cellular mechanisms. Recent metabolic studies on stem cells aim to discover the metabolites that confer them high plasticity and direct their differentiation. Metabolic flow between cellular signaling and epigenetic regulation are extremely important and certain metabolites are very crucial to determine cell fate, plasticity. Energy metabolism stands out as the most important pathway in stem cell homeostasis/differentiation. Regeneration capacity of the stem cells is maintained by oxygen-independent anaerobic glycolysis pathway however; oxidative phosphorylation is the main source of the energy for differentiating cells. For this purpose, we compared the bone marrow and the peripheral blood microenvironment. While HSCs remain silent in one of these microenvironment and whereas differentiate and migrated in another. We investigated the presence of different niches in healthy human hematopoietic stem cell microenvironment by comparative metabolomics (GC-MS method) and transcriptomics (RNA-seq method) analyses. Sphingolipid metabolism were found to be altered and higher SPHK1 gene expression were detected in human bone marrow mesenchymal stem cells (hBM-MSC). Of note, sphingosine SPHK1, HIF1A, VHL, PHD gene expression levels in hBM-MSCs and peripheral blood mononuclear cells (PB-MNC) were analyzed comparatively and SPHK1 gene expression level was found to be significantly higher than in MSCs. SPHK was first described as a major regulator of tumor cell growth, viability, invasion, vascular maturation and angiogenesis. SPHK1 activity is stimulated under low oxygen conditions and its transcription increased. In this study, it was shown that SPHK1 is one of the main modulators of hypoxia that maintains the glycolysis pathway in the bone marrow microenvironment..

This research study was supported by TÜBİTAK (Grant no: 213S006).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 99 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Hastaya Özgü SCN5A Nokta Mutasyonu Taşıyan UPK Hücreleri Kullanılarak Ventriküler Taşikardi Modellerinin İncelenmesi

Sevilay Sahoğlu Göktaş¹, Yusuf Enes Kazcı¹, Tuğçe Torun², Volkan Tuzcu⁴, Esra Çağavi³

¹Istanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinir Bilim Doktora Programı, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye

²Istanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Yüksek Lisans Programı, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye

³Istanbul Medipol Üniversitesi, Uluslararası Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye

⁴Istanbul Medipol Üniversitesi, Uluslararası Tıp Fakültesi, Pediatrik Kardiyoloji ABD, İstanbul, Türkiye

İlk üç yazar bu çalışmaya eşit katkı sağlamıştır. Taşikardi pediatrik veya yetişkin hastalarda kalp atım sayısının dakikada 120 ve üzerine çıkması ile klinikte karakterize edilen, ölümcül fibrilasyona neden olabilen bir olgudur. Literatürde, süreklilik gösteren (sustained) taşikardinin hastaya özgü uyarılmış pluripotent kök hücrelerden (UPKH) farklılaştırılan kardiyomiyositler kullanılarak geliştirilen bir in vitro modeli bulunmamaktadır. Bu çalışma kapsamında, konjenital süreklilik gösteren ventriküler taşikardi ile tanısı konulmuş aynı aileden iki hastanın periferik mononükleer kan hücreleri UPKH'ye yeniden programlanıp kardiyomiyositlere farklılaştırılarak hastalığın patofizyolojik incelenmesi literatürde ilk olarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, hastalığın genetik kökeni incelemek üzere yapılan ekzom sekanslama sonucunda SCN5A geninde daha önce tanımlanmamış bir yanlış anlamalı (missense) mutasyon tespit edildi. mRNA seviyesi ve protein lokalizasyonu tespitinde yapılan analizlerde SCN5A genindeki mutasyonun hastalara ait hücrelerde sağlıklı hücrelere göre anlamlı bir farklılık yaratmadığı tespit edildi. İlginç olarak, elektrot dizi sistemi ile ölçüm alan CardioECR (xCELLigence®) sisteminden alınan alan potansiyeli kayıtlarında hastalardan köken alan UPKH-temelli kardiyomiyositlerin atım sayısı 150-250 atım/dakika, sağlıklı hücrelerin ise 45-95 atım/dakika olarak ölçüldü. Ayrıca, uzun süreli kayıtlarda hastaya özgü UPKH kökenli kardiyomiyosit hücrelerinin atım dinamiğinin, tanımlanamayan T-dalgaları ile 180'den maksimum dakikada 355 atım kadar çıktığı gözlemlendi. Bu bulgu, oluşturduğumuz in vitro modelin kliniğe benzer şekilde fibrilasyon fenotipi gösterdiğini doğrulamaktadır. Hasta bireylerden elde edilen hücrelerde CardioECR cihazı ile ölçüm alınırken yaptığımız ilaç uygulamalarında anti-aritmik 1c grubu sodyum kanal blokörü olan Flecainid kullanımı ile atım sıklığı ve alan potansiyeli genliğinin anlamlı şekilde düştüğü gözlemlendi. Bununla birlikte 1B grubu anti-aritmik ilaç olan Meksiletin ve betablokör olan Atenolol'un atım frekans ve potansiyel dinamiğini

değiştirmedeği gözlemlendi. Bu çalışma hastaya ait UPKH-kardiyomiyosit kullanılarak süreklilik gösteren-ventriküler taşikardinin ve fibrilasyon benzeri fenotipin in vitro modellenerek ilaç yanıtının çalışıldığı ilk çalışma olması ve transkripsiyonel ilaç deneme ve hastalığın moleküler karakterizasyonu bakımından önemlidir.

Bu araştırma TÜBİTAK 1003 Öncelikli Alanlar Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı tarafından 213S192 Nolu Proje kapsamında desteklenmektedir.

Modeling Sustained Ventricular Tachycardia With Patient Derived Ipsc Carrying A Novel Scn5a Missense Mutation

Sevilay Sahoğlu Göktaş¹, Yusuf Enes Kazcı¹, Tuğçe Torun², Volkan Tuzcu⁴, Esra Çağavi³

¹Istanbul Medipol University, Health Sciences Institute, Neuroscience PhD Programme Regenerative and Restorative Medicine Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, TURKEY

²Istanbul Medipol University, Health Sciences Institute, Medical Biology and Genetics MSc Programme Department of Medical Biology, Regenerative and Restorative Medicine Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, TURKEY

³Istanbul Medipol University, International School of Medicine, Department of Medical Biology, Regenerative and Restorative Medicine Research Center-REMER, Istanbul, Turkey

⁴Department of Pediatric Cardiology, School of Medicine, Istanbul Medipol University, Istanbul, TURKEY

Ventricular tachycardia and fibrillations might lead to sudden cardiac death. Clinically, sustained tachycardia are diagnosed based on recording more than 120 beats per minute (BPM) for a defined period. However, it remains to be elucidated whether Ca²⁺ dynamics and beating capacity of iPSC-derived cardiomyocytes (iPSC-CM) could be competent to mimic sustained tachycardia, which could require strong excitability and contractility patterns similar to adult cardiomyocytes. Therefore, to assess the potential to model sustained cardiac tachyarrhythmia, iPSC-CMs from two patients were generated, within same family. By exome sequencing, a novel missense mutation was found at the SCN5A gene with dominant inheritance. Gene expression and immunostaining analysis did not display any significant difference in mRNA expression or a trafficking process of the mutant SCN5A protein. Interestingly, electrophysiological analysis of the patient-specific iPSC-CM by an impedance and field potential electrode integrated hybrid system demonstrated spontaneous contraction frequency of 150-250 BPM that is sustainable for months, although iPSC-CM from healthy subjects displayed within the range of 45-95 BPM. Moreover, firing rates of patient-specific iPSC-CM could be monitored to alter between 180 and a maximum of 355 BPM with shapeless and unrecognizable T-waves for several hours, implying that the culture have undergone to an intermittent fibrillation-like state similar to the clinical phenotype. Importantly, frequent beating rates and field potential spike amplitude could be significantly



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 99 SÖZLÜ BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

and exclusively attenuated by administration of Flecainide, a Class 1C sodium channel blocker; in strike contrast to the administration of Mexiletine, the Class 1B antiarrhythmic drug, or a betablocker, atenolol, for both no change could be detected in beating activities. To our knowledge, we present the first study using the iPSC-CMs to specifically model sustained ventricular tachycardia both singly and along with intermittent fibrillation-like activity, also supported with in vitro recapitulation of the drug responses of patients.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 075 SÖZLÜ BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

Yüksek Fruktoz-Düşük Streptozotocin Diyabet Modelinde Resveratrol'un Pankreas Adacık Hücreleri Üzerindeki Etkileri

Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Ayşe Seda Akdemir², Merve Anapalı², Gamze Tanrıverdi³, Turgut Ulutin¹, Melek Öztürk¹

¹*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum*

³*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Giriş: Bu çalışmada, yüksek-doz fruktoz diyeti ve düşük-doz streptozotocin (STZ) ile oluşturulan modifiye tip-2 diyabet modelinde resveratrolün pankreas adacık hücreleri ve apoptoz üzerine etkilerini araştırdık.

Materyal-Metod: Çalışmada, 8 haftalık Sprague-Dawley sıçanlar dört gruba ayrıldı; 1) Diyabetik grup, iki hafta % 10 fruktoz çözeltisi ile beslendi ve 2. haftanın sonunda STZ(40mg/kg) enjekte edildi, daha sonra üç hafta boyunca tekrar %10 fruktoz çözeltisi ile beslendi. 2) Diyabetik+Resveratrol grubu, diyabetik gruba dört hafta boyunca 1mg/kg/gün resveratrol uygulandı. 3) Resveratrol grubu, diyabetik olmayan sıçanlara son dört hafta boyunca resveratrol uygulandı. 4) Kontrol grubu. Deney sonunda (9. Hafta) tüm sıçanlar sakrifiye edildi ve pankreas dokuları alındı. Deney süresince vücut ağırlığı ve kan şekeri (KŞ) seviyeleri ölçüldü. Pankreas doku kesitlerine insülin, somatostatin, glukagon, PCNA ve aktif kaspaz-3 antikorları ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. Apoptoz tespiti için TUNEL testi kullanıldı. Tüm veriler istatistiksel yöntemlerle analiz edildi.

Bulgular: Diyabetik grupta KŞ düzeyleri anlamlı olarak yüksekti ve insülin-immünopozitif hücrelerin sayısı diğer gruplara göre daha düşüktü ($p<0.001$). Resveratrol uygulanan diyabetiklerin adacıklarında β -hücrelerinin sayılarının kontrole yakın, az sayıdaki adacıkta ise diyabetik gruba benzer olduğu gözlemlendi. Diyabetik grupta hem glukagon hem de somatostatin hücre sayısının diğer gruplara göre arttığı saptandı. Ayrıca, somatostatin(+) hücrelerinin hipertrofik olduğu gözlemlendi. Diyabetik grupta adacıklarda aktif kaspaz-3(+) ve TUNEL(+) apoptotik hücrelerin arttığı saptandı. Resveratrol uygulanan diyabetik grupta adacıklarda nadir apoptotik hücrelere ve aktif kaspaz-3(+) hücreler gözlemlendi. PCNA(+) hücreler kontrole kıyasla diyabetik grupta azalırken, resveratrol uygulanan diyabetik grupta artmış olarak saptandı.

Sonuç: Uyguladığımız diyabet modelinin ciddi beta-hücre kaybına, ayrıca hem endokrin hemde ekzokrin pankreasta yoğun apoptoza neden olduğunu, resveratrolün glukoz homeostazını düzenlediği, β -hücre kütlelerinin artışı ve rejenerasyonunu uyardığını, adacık morfolojisini koruduğunu ve apoptozu engellediğini

gösterdik. Resveratrol, yüksek fruktoz diyetine bağlı diyabette alternatif bir tedavi modeli olarak düşünülebilir.

Effects of Resveratrol on Pancreatic Islet Cells in High Fructose-Low Streptozotocin Diabetes Model

Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Ayşe Seda Akdemir², Merve Anapalı², Gamze Tanrıverdi³, Turgut Ulutin¹, Melek Öztürk¹

¹*Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Medical Biology Department, İstanbul*

²*Atatürk University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Erzurum*

³*Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Histology and Embryology Department, İstanbul*

We investigated the effects of resveratrol treatment on pancreatic islet cells morphology and apoptosis, using a modified high-dose fructose-diet and low-dose streptozotocin(STZ) induced type-2 diabetes model. In this study 8-week-old male Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups. 1) Diabetic group; supplied with 10% fructose solution, after two weeks injected streptozotocin(40 mg/kg bw), then supplied with 10% fructose solution for three weeks. 2) Diabetic+Resveratrol group; Diabetic-rats treated with 1 mg/kg/day resveratrol for four weeks. 3) Resveratrol group; Nondiabetic-rats treated with resveratrol for four weeks. 4) Control group. At the end of 9 weeks rats were sacrificed, pancreas tissues were taken. Body weight and blood glucose(BG) levels were measured. Tissue sections were immunostained with insulin, somatostatin, glucagon, PCNA and active caspase-3 antibodies. TUNEL assay was used for detection of apoptosis. All values were analyzed with statistical methods. In the diabetic group BG levels were significantly increased, the number of the insulin(+) cells in islets were lower ($p<0.001$) than control group. In the resveratrol-treated diabetic group, some islets were filled with β -cells while a few islets were similar to the diabetic group. Both glucagon and somatostatin cell numbers increased in the diabetic group. Somatostatin(+) cells were hypertrophic. The active caspase-3(+) cells and TUNEL(+) apoptotic-cells were increased in the islets of diabetic group. In the resveratrol treated diabetic group there were rare apoptotic and active caspase-3(+) cells in the islets. While PCNA(+) cells reduced in diabetic group, increased in resveratrol treated group. We suggested that our diabetes model caused severe beta-cell loss, as well as intense apoptosis in both endocrine and exocrine pancreas, and also showed that resveratrol regulates glucose homeostasis, stimulates the increase and regeneration of β -cell mass, and maintains islet morphology and apoptosis. Resveratrol may be considered as an alternative treatment modality in diabetes due to the high fructose diet.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 076 SÖZLÜ BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

D vitamini takviyesinin serum D vitamini seviyeleri ve telomere etkisi

Deniz Ağırbaşı¹, Minenur Kalyoncu¹, Mehmet Ali Ağırbaşı², Meltem Müftüoğlu³

¹Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul

²Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD, İstanbul

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Medikal Biyoteknoloji AD, İstanbul

Amaç: D vitamini hücrenin yaşamsal faaliyetlerinde rol oynadığı ve genomik kararlılık ile ilişkili olduğu için, 25(OH)D seviyelerindeki değişikliğin telomer uzunluğu ile ilişkisi araştırma konusudur. Çalışmanın amacı menopoz sonrası sağlıklı kadınlarda D vitamini seviyelerinin telomer boyu ile ilişkisini ve D vitamini takviyesinin telomer boyuna, GC (VDBP) ve Vitamin D Reseptör (VDR) genlerinin ifadesine etkisini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: D vitamini takviyesinden önce gönüllü katılımcılardan (n=80) kan örnekleri toplandı, ayrıntılı kişisel bilgileri alındı. Deney grubu rastgele ikiye bölündü. İlk gruba (n=40) 2 ay boyunca 50,000 IU / hafta oral D3 vitamini takviyesi, diğer gruba (n=40) ise plasebo verildi. Serum 25(OH)D düzeyleri, lökosit telomer uzunluğu, GC, VDR gen ifadesi, tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırıldı.

Bulgular: D vitamini düzeylerindeki değişim hem plasebo grubunda (p<0.001) hem de D vitamini grubunda (p<0.0001) anlamlı bulundu. Telomer uzunluğu hem plasebo hem tedavi grubunda artış gösterdi (p<0,001). VDR (p=0.01) ve GC gen ifadeleri tedavi alanlarda plaseboya göre azaldı. GC gen ifadesi sigara içmeyenlerde azalırken tedavi grubundaki sigara içenlerde azalma göstermedi (p<0,01).

Sonuç: D vitamini takviyesinin 25(OH)D düzeyleri ve telomer uzunluğuna etkisi mevsimsel değişikliklerden etkilenmektedir. D vitamini takviyesiyle VDBP ve VDR ifadeleri azalmıştır. Sigara öyküsü Vitamin D tedavisine verilen yanıtı etkilemektedir.

D vitamini tedavisinin telomer uzunluğu ve D vitamini belirteçlerine etkisi çevresel faktörlerden etkilenmektedir.

The effect of vitamin D supplementation on serum vitamin D levels and telomeres

Deniz Ağırbaşı¹, Minenur Kalyoncu¹, Mehmet Ali Ağırbaşı², Meltem Müftüoğlu³

¹Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University School of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul

²medeniyet University Medical Faculty, Department of Cardiology, Istanbul

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University, Department of Medical Biotechnology, Istanbul

Objective: Vitamin D is involved in vital activities of the and is related to genomic stability. Changes in vitamin D levels may be associated with telomere length. The objective of the study is to investigate the association between vitamin D levels and leukocyte telomere length in healthy postmenopausal Turkish women.

Materials-Methods: Detailed personal information and blood samples were collected (n=80) before vitamin D supplementation. The subjects were randomly divided into two. The first group (n = 40) received oral vitamin D3 supplementation at 50,000 IU/week for 2 months, the other group (n = 40) received placebo. Serum Vitamin D levels, leukocyte telomere length, Vitamin D binding protein (GC), vitamin D receptor (VDR) gene expressions were compared in these groups before and after the supplementation.

Results: Changes in vitamin D levels were significant both in treatment and placebo groups (p<0.001). Telomere length was significantly increased both in the placebo and the treatment group (p<0,001). VDR (p=0.01) and GC gene expressions decreased in the treatment group compared to placebo group. However GC gene expressions significantly decreased in nonsmokers but not in smokers in the treatment group (p <0.01).

Conclusion: The effect of vitamin D supplementation on 25 (OH) D levels and telomere length is affected by seasonal changes. VDBP and VDR expressions decreased with vitamin D supplementation. Smoking history affects the response to vitamin D treatment.

The effects of vitamin D treatment on telomere length and vitamin D markers are affected by environmental factors.

Bu araştırma TÜBİTAK tarafından desteklenen 116Z812 numaralı (TÜBİTAK 3001 Projesi) – Postmenopozal kadınlarda D vitamini ile lökosit telomer uzunluğu arasındaki ilişkinin araştırılması başlıklı proje kapsamında yapılmıştır.



SS – 077 SÖZLÜ BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

Erkek İnfertilitesi Tanısı Almış Bireylerin Spermlerinde Otofaji Belirteçlerinin Araştırılması

Nazlı Karagöz Can¹, Kemal Ergin²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Muğla.

²Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji AD Aydın

Amaç: İnfertilite sadece fizyolojik olarak değil, psikolojik ve sosyolojik yönleri ile ele alınması gereken önemli bir sağlık sorunudur. Normal erkek fertilitésinin korunması morfolojisi normal, yeterli ve hareketli sperm üretimine dayanır. İnsan spermatozoası, otofaji aktivasyonu için gerekli olan moleküler mekanizmaya sahiptir. Bu mekanizma, insan sperm fizyolojisinde canlılığı ve motiliteyi korumada görev almaktadır. Otofaji mekanizmasında meydana gelebilecek bozulmalar hücre canlılığını olumsuz yönde etkilemektedir.

Gereç-Yöntem: bu çalışmada 4 grup oluşturduk. Kontrol Grubu: Hiçbir infertilite rahatsızlığı bulunmayan Dünya Sağlık Örgütü (WHO 2010) semen parametrelerine göre normal kabul edilen hastalar. Varikosel Grubu: Varikosel teşhisi almış ve diğer infertilite nedeni olan hastalıkları bulunmayan hastalar. Enfeksiyon Grubu: Orşit-Epididimit teşhisi almış ve diğer infertilite nedeni olan hastalıkları bulunmayan hastalar. Açıklanamayan İnfertilite Grubu: Açıklanamayan infertilite teşhisi almış ve diğer infertilite nedeni olan hastalıkları bulunmayan hastalar.

Bulgular: Her bir gruba dahil edilen hastaların sperm parametreleri WHO 2010 kriterlerine göre değerlendirildi. Ayrıca her bir hasta grubundan alınan örneklerle yayma preparat ile LC3A/B, Beclin-1, p62, ATG5, ATG12 ve ATG16 antikorları ile immunohistokimyasal olarak boyama yapıldı. Her bir hasta grubundan alınan örneklerle LC3A/B ve Beclin-1 antikorları ile western blot analizi yapıldı ve her bir hasta grubu Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) kullanılarak ultrastüktürel olarak incelendi. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda normal insan spermatozoasında işlevsel olarak var olduğu bilinen otofaji belirteçlerinin hasta gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını gözlemledik.

Sonuç: Yapmış olduğumuz western blot analizi ve ultrastüktürel incelemelerde bu elde ettiğimiz verileri desteklemekteydi. Bu sonuçlarda bize varikosel, orşit-epididimit gibi rahatsızlıkların otofaji mekanizmasında bozulmaya neden olabileceğini göstermiştir. Bu mekanizmanın açığa çıkarılması yeni tedavi seçenekleri oluşturulmasının kapısını açacaktır. Ayrıca yapılan tüm araştırmalara rağmen açıklanamayan erkek infertilitesi teşhisi konmuş vakalarda da otofaji belirteçlerindeki bu artışın, yeni teşhis ve tedavi alternatiflerinin geliştirilmesi yönünden bilime katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Investigation Of Autophagy Markers In The Sperms Of Male Infertility Diagnosed Individuals

Nazlı Karagöz Can¹, Kemal Ergin²

¹Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology, Muğla.

²Adnan Menderes University Faculty of Medicine Department of Histology Embryology Aydın

Objective: Infertility is an important health problem not only physiologically but also psychologically and sociologically. The preservation of normal male fertility is based on the production of morphologically normal, adequate and mobile sperm. Human spermatozoa has the molecular mechanism necessary for autophagy activation. This mechanism is responsible for maintaining vitality and motility in human sperm physiology. A disruption that may occur in the autophagy mechanism affects the cell viability negatively.

Materials-Methods: Control Group: Patients without any infertility disorders who are considered normal according to the World Health Organization (WHO 2010) semen parameters. Varicocele Group: Patients diagnosed with varicocele but without other infertile diseases. Infection Group: Patients diagnosed with Orchitis-epididymitis but without other infertile diseases. Unexplained Infertility Group: The group in which the patients were diagnosed with an unexplained infertility diagnosis (without other infertile disease).

Results: The sperm parameters of patients included in each group were assessed according to the WHO 2010 criteria. Immunohistochemical staining was also performed with LC3A/B, Beclin-1, p62, ATG5, ATG12 and ATG16 antibodies in the specimens obtained from each patient group. Samples from each patient groups were subjected to western blot with LC3A/B and Beclin-1 antibodies. In addition, each patient group was examined ultrastructurally using TEM microscopy. We observed that autophagic markers known to be functionally present in normal human spermatozoa increased significantly in patient groups compared to the control group. The western blot and ultrastructural studies that we have done have also supported the data we have obtained.

Conclusion: These results have shown us that such disorders as varicocele, orchitis-epididitis may cause deterioration in autophagy mechanism. The discover of this mechanism will open the door to the creation of new treatment options. In addition, we believe that this increase in autophagic markers will shed new light on the development of new diagnostic and therapeutic alternatives for unexplained infertility cases.

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF17038 Proje numarası ile desteklenmiştir.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 89 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Primer insan astrosit kültüründe alfa sinüklein aşırı ekspresyonu nörotrofik faktörlerin ve reseptörlerinin seviyesini nasıl değiştirir?

Büşra Şengül, Erdinç Dursun, Duygu Gezen Ak

Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye

Amaç: Astrositler, merkezi sinir sisteminde (MSS) bulunan destek hücrelerinden biridir. Bu hücreler, diğer nöroglia hücreleriyle birlikte gelişimin çeşitli evrelerinde nörotransmitter, hormon, trofik ve immün faktörleri üretir ve sinaptik fonksiyonlarda görev alırlar. Trofik faktörler, sinir hücrelerinin farklılaşması, büyümesi ve gelişiminin çeşitli yönlerini düzenlemektedir. α -sinükleinopatiler, nöronların ve glia hücrelerinin sitoplazmasında α -sinüklein olarak adlandırılan bir proteinin anormal birikimi ile karakterize olan bir grup nörodejeneratif hastalıktır. α -sinüklein; dopamin salınımında, hafıza oluşumunda ve bilişsel fonksiyonlarda rol almaktadır. α -sinükleinin SNARE kompleksinin oluşumunda bir şaperon gibi davranarak sinaptik aktiviteyi etkileyebileceği ve presinaptik sinir terminallerinde nörotransmitter salınımında α -sinükleine ihtiyaç duyulabileceği gösterilmiştir. α -sinükleinopatilerin de dahil olduğu nörodejeneratif hastalıkların en önemli ortak patolojik mekanizmaları arasında, kalsiyum dengesinin bozulması ve nörotrofik faktör sentezinde ve kullanımında olan değişiklikler yer almaktadır. Bu çalışma, nörotrofik faktör sentezi ve salınımı açısından insan astrositlerinin genel profilini ve bu profilin α -sinüklein aşırı ekspresyonuna cevap olarak nasıl değiştiğini belirlemek amacıyla tasarlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada, primer insan astrositleri kullanılarak hücre kültürü gerçekleştirildi. İnsan SNCA genini taşıyan plazmid, lipid bazlı bir transfeksiyon ajanı kullanılarak hücrelere aktarıldı. Human growth factor antibody array kullanılarak gerçekleştirilen kemilüminisans tabanlı western/dot blot yöntemi ile hücre içi ve salınan trofik faktörler ve reseptörlerinin seviyelerindeki değişiklikler saptandı.

Bulgular: Elde ettiğimiz veriler insan astrositlerinde insülin ilişkili faktörlerle birlikte, VEGF, PDGF, FGF, EGF grubu faktörlerin bazılarının, TGF grubundan TGF- β 3'ün ve nörotrofin grubundan olan NT-4'ün oldukça baskın olduğunu gösterirken; bNGF'nin çok düşük oranda üretildiğini ve FGF-4'ün ise uygulama yapılmamış astrositlerde neredeyse hiç ekspresyonunun olmadığını göstermektedir. Astrositlerde α -sinüklein aşırı ekspresyonunun, yukarıda tariflenen profili oldukça değiştirdiği saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma, insan astrositlerine ait trofik faktörler reseptörlerinin profilini belirleyen ve α -sinüklein aşırı ekspresyonunun bu profili nasıl değiştirdiğini araştıran ilk in vitro çalışmayı temsil etmektedir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

Birimi (Proje No: 23616) ve TÜBİTAK (Proje No: 216S887) tarafından desteklenmiştir.

How does alpha synuclein over-expression alter the levels of neurotrophic factors and their receptors in primary human astrocyte culture?

Büşra Şengül, Erdinç Dursun, Duygu Gezen Ak

IBrain and Neurodegenerative Disorders Research Unit, Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

Objective: Astrocytes are support cells in CNS. Together with the other neuroglial cells, these cells produce neurotransmitters, hormones, trophic and immune factors and participate in synaptic functions in various stages of development. Trophic factors regulate differentiation, growth and development of nerve cells. α -synucleinopathies are a group of neurodegenerative disorders which are characterized with abnormal accumulation of α -syn protein in the cytoplasm of neurons and glia cells. It was shown that α -synuclein may also affect the synaptic activity by acting as a chaperone in the formation of the SNARE complex and may be needed in neurotransmitter release in presynaptic nerve terminals. Impairment of calcium homeostasis and alterations in synthesis and utilization of neurotrophic factors take part in the most significant common pathological mechanisms of neurodegenerative disorders which also includes α -synucleinopathies. Present study was designed in order to determine the general profile of human astrocytes in terms of neurotrophic factor synthesis and secretion, and how this profile is altered in response to α -synuclein overexpression. **Materials-Methods:** In the study, the primary human astrocytes was cultured. Human SNCA gene carrying plasmid was transferred to the cells by using a lipid-based transfection agent. Levels of intracellular and released trophic factors and their receptors in untreated and α -synuclein overexpressing astrocytes were detected with chemiluminescence-based western/dot blot method by using human growth factor antibody array.

Results: Our preliminary results shows that along with insulin related factors, some of the factors from VEGF, PDGF, FGF, EGF class, TGF- β 3 from TGF class and NT-4 from neurotrophin class predominate, while bNGF is produced low and FGF-4 has nearly no expression in untreated astrocytes. α -syn overexpression in astrocytes highly altered the profile described above.

Conclusion: This is the first study that investigated the general profile of intracellular and released neurotrophic factors and their receptors in human astrocytes and how this profile is altered by α -syn overexpression. The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University Project no:23616 and by the Scientific and Technological Research Council of Turkey-TUBITAK, Project no:216S887



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 90 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Nörona farklılaştırılmış insan SH-SY5Y hücrelerinde alfa sinüklein ve amiloid betanın inflamatuvar proteinler üzerine etkisi

Ebru Keskin, Duygu Gezen Ak, Erdinç Dursun

Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Ünitesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Turkey

Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH) ve Lewy cisimcikli demans (DLB) en sık görülen nörodejeneratif hastalıklar arasında yer almaktadır. Nöroinflamasyon bu hastalıkların önemli bir bileşenini oluşturmaktadır ve merkezi sinir sisteminde nöron, mikroglia ve astrositlerden salınan sitokinler ve kemokinler gibi düzenleyiciler tarafından sağlanmaktadır. Çalışmamızda retinoik asit (RA) ile nöron benzeri fenotipe farklılaştırılan SH-SY5Y hücrelerinin fizyolojik koşullardaki sitokin ve inflamatuvar yanıt düzenleyicilerini tanımlayarak AH, PH ve DLB gibi nörodejeneratif hastalıkların hücresel modellerinde hedef sitokin seviyelerini karşılaştırmayı amaçladık. Hastalık modelleri RA uygulaması ile nörona farklılaştırılan insan SH-SY5Y hücrelerinde gerçekleştirildi. AH benzeri patoloji, 6µM Aβ1-42 uygulaması ile; PH benzeri patoloji SNCA (α-sinüklein) aşırı ekspresyonu ile; DLB benzeri patoloji ise SNCA aşırı ekspresyonu sonrasında Aβ1-42 uygulaması ile oluşturuldu. Ray-biotech C serisi insan inflamasyon antibody array C3 ile 40 adet salınan inflamatuvar proteinin seviyesindeki değişiklikler tespit edildi. Sonuçlarımız, optimal kültür koşullarındaki nörona farklılaştırılmış SH-SY5Y hücrelerinden baskın olarak TIMP-2, MCP-1, RANTES, MIP-1 beta, IL-3, IP-10, Eotaksin-2'nin salındığını gösterirken; G-CSF, IL-6, IL-8, MIG, IFN-γ'nin ise daha düşük miktarlarda salındığını göstermiştir. Aβ1-42 uygulaması 48. ve/veya 72. saatte anlamlı olarak Eotaksin-1, Eotaksin-2, MIP-1α, MIP-1β, MIP-1δ, ICAM-1, I-309, IL-3, IL-8, IL-10, IL-11, IFN-γ, MCP-1, IL-4, IL-6 seviyelerini arttırırken; IP-10, TGFβ-1, TNF-α; TNF-β, IL-3, IL-13, sTNF-R1, IL-15, IL-16, MIG seviyelerini azaltarak inflamatuvar yanıtı başlatmaktadır. α-sinüklein aşırı ekspresyonunun 48. ve/veya 72. saatte ICAM-1, MCP-1, Eotaksin-1, IFN-γ, TNF-α, IL-13 seviyeleri indüklenirken; IL-6, IL-6R, IL-10, IL-3, IL-4, IL-8, MIP1δ, RANTES seviyeleri azalmaktadır. α-sinüklein aşırı ekspresyonu sonrasında Aβ1-42 uygulamasının 48. ve/veya 72. saatte G-CSF, GM-CSF, TNF-α, Eotaksin-2, IL-15, MIP-1α, TGFβ-1 seviyeleri indüklenirken; I-309, IL-3, PDGF-BB, IL-4, IL-6sR, IL-10, sTNF-R2, IL-8, MCP-1, MCP-2 seviyeleri baskılanmıştır. Bu çalışma, üç hastalık patolojisinin inflamatuvar protein profili açısından karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz veriler Aβ1-42'nin anlamlı bir şekilde inflamatuvar yanıtı indüklediğini gösterirken; α-sinüklein çok sınırlı bir inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. α-sinüklein + Aβ1-42; Aβ1-42 veya α-sinüklein patolojilerinden farklı bir sitokin grubunu

etkilemektedir. Bütün patolojiler uygulama periyotları ile değişen dinamik bir profile sahiptir.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu (Proje No: 26128) tarafından desteklenmiştir.

Effect of alpha-synuclein and amyloid-beta on inflammatory proteins in neuron differentiated human SH-SY5Y cells

Ebru Keskin, Duygu Gezen Ak, Erdinç Dursun

IBrain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD) and dementia with Lewy bodies (DLB) are among the most common neurodegenerative diseases. Neuroinflammation in CNS is a significant component of these disorders and is provided by regulators such as cytokines and chemokines released from neuron, microglia, and astrocytes. Our study aimed to define a steady-state levels of cytokines and immune response modulators in SH-SY5Y cells that were differentiated into neuron-like phenotype with retinoic acid (RA), then compare the levels of target cytokines in cellular models of neurodegenerative disorders, namely AD, PD and DLB. Disease models were established on human SH-SY5Y cells that were differentiated into neurons with RA treatment. AD-like pathology was established by 6µM Aβ1-42 administration and PD-like pathology with SNCA (α-synuclein) overexpression; DLB-like pathology with SNCA overexpression followed by Aβ1-42 treatment. Alterations in the levels of forty released inflammatory proteins were detected with Ray-biotech C series human inflammation antibody array C3. Our data showed that SH-SY5Y cells that were differentiated into neurons predominately secrete TIMP-2, MCP-1, RANTES, MIP-1β, IL-3, IP-10, Eotaksin-2 while they secrete G-CSF, IL-6, IL-8, MIG, IFN-γ levels in lesser amounts in optimal culture conditions. Aβ1-42 significantly induced an inflammatory response by increasing the secretion of Eotaksin 1, Eotaksin-2, MIP-1α, MIP-1β, MIP-1δ, ICAM-1, I-309, IL-3, IL-8, IL-10, IL-11, IFN-γ, MCP-1, IL-4; IL-6 and attenuated levels of IP-10, TGFβ-1, TNF-α; TNF-β, IL-3, IL-13, sTNF-R1, IL-15, IL-16, MIG in 48 or 72 hours of treatments. α-synuclein over expression induced ICAM-1, MCP-1, Eotaksin-1, IFN-γ, TNF-α, IL-13 and attenuated IL-6, IL-6R, IL-10, IL-3, IL-4, IL-8, MIP1δ, RANTES secretion in same treatment periods. α-synuclein + Aβ1-42 significantly induced G-CSF, GM-CSF, TNF-α, Eotaksin-2, IL-15, MIP-1α, TGFβ-1 and suppressed I-309, IL-3, PDGF-BB, IL-4, IL-6sR, IL-10, sTNF-R2, IL-8, MCP-1, MCP-2 in 48 or 72 hours of treatments. To our knowledge, this study is the first to compare three diseases like pathologies in terms of inflammatory protein profile. Aβ1-42 significantly induces an inflammatory response. On the contrary α-



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 90 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

synuclein has a very limited immune response. α -synuclein+ $A\beta$ 1-42 has its own way affecting a different set of cytokines than we see in $A\beta$ 1-42 or α -synuclein sole pathologies. All pathologies have a dynamic profile changing with the treatment periods.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University (ProjectNo:26128).



SS – 91 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

SIRT4'un etkileşime girdiği proteinlerin belirlenmesi ve eksitotoksisteye etkisinin araştırılması

Gizem Dönmez Yalçın, Abdullah Yalçın

*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı*

Amaç: Glutamat, beyindeki majör uyarıcı nörotransmitterdir. Presinaptik nöronlardan salınarak glutamat reseptörlerini aktive eder. Sinaptik boşluktaki fazla glutamat, eksitotoksisteye yol açar. Eksitotoksiste, epilepsi ve Parkinson hastalığı gibi beyin hastalıklarında görülen bir durumdur. GLT-1 (Glutamate Transporter 1) glutamatın %95'ini temizleyerek eksitotoksistenin önlenmesini sağlar. Sirtuinler, çekirdek, sitoplazma ve mitokondride ekspres olan, deasetilasyon, ADP-ribozilasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlar gerçekleştiren enzimlerdir. Sirtuinlerin bu fonksiyonları, proteinlerin veya enzimlerin aktive olmasına ya da engellenmesine neden olur. Sirtuinlerin beyin hastalık mekanizmaları ile ilgileri gösterilmiştir. SIRT4, beyinde fazlasıyla ekspres olan, metabolik olayları kontrol eden, GDH (glutamat dehidrogenaz)'i deasetile eden mitokondriyel bir sirtuindir.

Daha önce yayınlamış olduğumuz çalışmamız, SIRT4 knockout farenin kainik asit verildiğinde (intraperitoneal enjeksiyon, 25 mg/kg) daha fazla titreme gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Shih et al. 2014 J Neurochemistry). Bu sonuç, SIRT4'un beyindeki yokluğunun kainik asit sonucu oluşan eksitotoksisteye artırdığını göstermektedir. Bunun moleküler mekanizması ise SIRT4 yokluğunda, glutamat alımının (glutamate uptake) ve GLT-1 reseptörünün hücre yüzeyi ekspresyonunun azalması olarak gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı SIRT4'un etkileşime girdiği proteinleri belirlemek ve eksitotoksiste ile ilgisini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Kontrol ve SIRT4 KO (knock out) fare beyinlerinden total protein izole edilmiş, immunopresipitasyon yöntemi ile SIRT4 ile etkileşen proteinler ayrılmış ve kutle spektrometrisi ile bu proteinler belirlenmiştir. Ayrıca kontrol ve SIRT4 KO beyin ekstrelinde ATP miktarı, ATP bioluminescence ölçüm kiti (Roche) kullanılarak ölçülmüştür.

Bulgular: Bu yaptığımız çalışmada ise fare beyinde SIRT4'un etkileşime girdiği proteinleri gösterdik. Bu proteinler HSC 71 (Heat shock cognate 71 kDa), Calreticulin, 78 kDa glucose-regulated protein, Annexin A5 ve Peroxiredoxin 1'dir. Bu şekilde ilk kez, SIRT4'un, GDH (glutamate dehidrogenaz) dışında hedefi olabilecek proteinler gösterilmiş oldu. SIRT4 KO fare beyinde ise ATP seviyeleri kontrol beyinlere göre daha düşük bulunmuştur.

Sonuç: Sonuç olarak eksitotoksiste ve ilgili nörodejeneratif hastalıklarla mücadele için SIRT4 gibi

eksitotoksik yollarla ilgili proteinlerin hücre içindeki moleküler etkileşimleri araştırılmalı ve ilaç geliştirilme için kullanılmalıdır.

The identification of SIRT4 interacting proteins and their effects on excitotoxicity

Gizem Dönmez Yalçın, Abdullah Yalçın

*Adnan Menderes University Medical Faculty Department of
Medical Biology*

Objective: Glutamate is the major excitatory transmitter in the brain. It is released from presynaptic neurons in order to activate the postsynaptic glutamate receptors. Excitotoxicity is observed in brain diseases such as epilepsy and Parkinson's Disease.

Sirtuins are enzymes that post-translationally modify proteins by deacetylation, ADP-ribosylation etc. and expressed in nucleus, mitochondria or cytoplasm. SIRT4 is a mitochondrial sirtuin that is highly expressed in brain, involved in metabolic pathways and deacetylates GDH (glutamate dehydrogenase).

Our previous study showed that when kainic acid was administered (intraperitoneally 25 mg/kg) to SIRT4 KO (knock out) mice, they displayed increased seizure activity (Shih et al. 2014 J Neurochemistry). This result shows that the lack of SIRT4 in brain increases the excitotoxicity induced by kainic acid. The molecular mechanism was found to be the decrease in glutamate uptake and also the decrease in the cell surface expression of GLT-1.

The aim of this study is to identify the SIRT4 interacting proteins and investigate their effects on excitotoxicity.

Materials-Methods: Total protein was isolated from wild type and SIRT4 KO mouse brains, SIRT4 interacting proteins were pulled down with immunoprecipitation and interacting proteins were identified with mass spectrometry. ATP levels of control and SIRT4 KO mouse brains were measured with ATP Bioluminescence Kit (Roche).

Results: In our study, we showed interacting proteins of SIRT4 in mouse brain, which are HSC 71 (Heat shock cognate 71 kDa), Calreticulin, 78 kDa glucose-regulated protein, Annexin A5 ve Peroxiredoxin 1. By this way, SIRT4 interacting proteins except GDH were identified for the first time. The ATP levels were found to be lower in SIRT4 KO brains compared to control brains.

Conclusion: To fight against neurodegenerative diseases related to excitotoxicity, the molecular interactions of proteins like SIRT4 in the cell, should be investigated and used for the development of drugs.



SS – 92 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Vitamin D'nin oksidatif fosforilasyon sistemi altünitelerini kodlayan mitokondriyal gen ekspresyonları üzerine etkisi

Merve Alaylıoğlu, Erdinç Dursun, Duygu Gezen Ak

*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif
Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye*

Ana fonksiyonları enerji üretimi ve kalsiyum homeostazının korunması olan mitokondri, özellikle beyin gibi yüksek enerjiye ihtiyaç duyan dokular için önemli bir organeldir. Mitokondriyal fonksiyon bozukluklarının, yaşlanma, Alzheimer hastalığı (AH) ve Parkinson hastalığı (PH) gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Özellikle oksidatif fosforilasyon sistemindeki (OXPHOS) kompleks I ve kompleks IV kökenli mitokondriyal disfonksiyonların PH gelişimiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Vitamin D 1000'e yakın genin regülasyonundan sorumlu sekosteroid bir hormondur. Vitamin D etkisini, vitamin D reseptörü (VDR) veya membran reseptörü 1,25MARRS/Erp57 aracılığıyla gösterir. Vitamin D'nin, başta oksidatif stres mekanizması ve kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesi olmak üzere sinir sistemi üzerinde sayısız etkisi vardır. Vitamin D eksikliğinin veya vitamin D'nin yetersiz kullanımının nöronların yaşlanmaya ve nörodejenerasyona yatkınlığını artırdığını gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Vitamin D ve mitokondri arasındaki ilişkiye dair çok kısıtlı sayıda bilgi bulunmaktadır. Ancak VDR'nin ve vitamin D metabolizmasında yer alan bazı enzimlerin mitokondriyal lokalizasyonunun gösterilmesi gibi bulguları bu ilişki üzerine önemli ipuçları sağlamaktadır. Bu bilgiler, vitamin D'nin mitokondride ve özellikle nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde bir rolü olabileceğini akıllara getirmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda vitamin D ve vitamin D eksikliğinin OXPHOS altünitelerini kodlayan mitokondriyal genlerin ekspresyonu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu amaca ulaşmak üzere çalışmamızda primer nöron kültüründe ve Parkinson hastalarında vitamin D ve reseptörlerinin OXPHOS alt ünitelerini kodlayan mitokondriyal genlerin ekspresyonu üzerine etkilerini inceledik. Çalışmamızda vitamin D uygulanan veya VDR ve 1,25-MARRS genleri susturulan primer kortikal nöronlarda ve Parkinson hastaları ile sağlıklı bireylerde OXPHOS altünitelerini kodlayan 13 adet mitokondriyal genin ekspresyon seviyesi qRT-PCR yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca, Parkinson hastası ve sağlıklı bireylerin serum vitamin D seviyeleri CLIA yöntemi ile belirlendikten sonra mRNA ekspresyon seviyeleri serum vitamin D seviyelerine göre karşılaştırılmıştır. Sonuçlarımız, hem primer nöronlarda hem de Parkinson hastalarında mitokondriyal genlere ait mRNA ekspresyon seviyelerinin farklı vitamin D konsantrasyonlarından ve vitamin D eksikliğinden etkilendiğini göstermiştir. Bu bulgular, vitamin D'nin

enerji metabolizmasında bir rolü olabileceğini göstermekte ve vitamin D eksikliği ile nörodejenerasyon arasındaki ilişkinin mitokondriyal fonksiyon bozukluklarını da içerebileceğini ileri sürmektedir.

The effects of vitamin D on the expressions of mitochondrial genes encode the subunits of oxidative phosphorylation system

Merve Alaylıoğlu, Erdinç Dursun, Duygu Gezen Ak

*Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit,
Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of
Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey*

Mitochondria, whose major functions are energy production and maintenance of calcium homeostasis are crucial organelles for high energy-demanded tissues such as brain. Mitochondrial dysfunctions suggested to be related with aging and neurodegenerative disorders such as AD and PD. Especially, complex-I and complex-IV of OXPHOS based mitochondrial dysfunctions are suggested to be related with PD development. Vitamin D is a secosteroid hormone responsible for regulation of over 1000 genes. It acts via VDR or its membrane receptor; 1,25MARRS/Erp57. Evidence indicates that either hypovitaminosis D or inefficient utilization of vitamin D may cause neurons to be vulnerable to aging and neurodegeneration. Information about their association is very limited. Some data provides important clues on this association such as demonstration of mitochondrial localization of VDR and the enzymes that function in vitamin D metabolism. These informations gave rise to thought that vitamin D may have a role in mitochondria, especially in the development of neurodegenerative disorders. Based on these data, we aimed to investigate effect of vitamin D and its deficiency on expression of mitochondrial genes that encode subunits of OXPHOS. In order to achieve this goal we determined effects of vitamin D and its receptors on expression of mitochondrial genes encode OXPHOS subunits in primary neuron cultures and in samples of PD patients. In the study, expression levels of 13 mitochondrial genes encodes the subunits of OXPHOS were detected by qRT-PCR in vitamin D-treated or VDR and/or 1,25-MARRS-silenced primary cortical neurons, in PD patients and healthy individuals. Serum vitamin D levels of PD patients and healthy subjects were detected by CLIA, then mRNA expression levels were compared according to serum vitamin D levels. Our results demonstrates that mRNA expression levels of mitochondrial genes are affected with different vitamin D concentrations and vitamin D deficiency in both primary neurons and patients. This finding shows that vitamin D might have a role in energy metabolism and suggests that association between vitamin D deficiency and neurodegeneration includes mitochondrial dysfunction.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 93 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

İnsan Kemik İliği Mezankimal Kök Hücrelerinden Fonksiyonel Nöronların Eldesi

Nurşah Öztunç¹, Nihal Karakaş²

¹*Istanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Programı, İstanbul*

²*Istanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Nöronlara dönüşebilme yeteneklerinden ve klinik kullanımının uygunluğundan dolayı, insan mezenkimal kök hücreleri (iMKH'ler), hücre tedavileri ve nörodejenerasyondaki hastalık modellemesi için başlıca yetişkin kök hücre kaynağını oluşturmuştur. Şimdiye kadar, iMKH'lerden nöronal hücre eldesi için belirgin faktörlere sahip çeşitli nöronal indüklemeye koşulları bildirilmiştir. Bu çalışmaların çoğunda, iMKH'lerden eldesi fenotipik olarak doğrulanmış olan nöronların fonksiyonel özellikleri yetersiz bulunmuştur ve yeni farklılaşma yöntemlerine ihtiyaç vardır. Bu çalışmada ise, iMKH kaynaklı nöronların işlevselliği ve nöronal alt fenotipleri analiz edilmiştir.

Gereç-Yöntem: Kemik iliği iMKH'leri EGF, FGF-2, FGF-8, NGF, BDNF, dbcAMP ve IBMX gibi zenginleştirilmiş faktörlerin varlığında nöronlara indüklenmiş ve nöronal protein ifadelerini belirlemek üzere immüno Floresan boyaması yapılmıştır. Daha sonra, iMKH'lerden elde edilen nöronlar kalsiyum iyonu görüntüleme ile fonksiyonel olarak analiz edilmiştir. Nöronlar ayrıca TH, Chat ve GAD67 ifadeleri için akım sitometrisi ile karakterize edilmiştir.

Bulgular: Nöronal hücrelere farklılaşan iMKH hattının yaklaşık %100'ünde ve sağlıklı donörlerden alınan iMKH'lerin % 80'inde, Nestin, NeuN, NSE, PGP 9.5 ve ayrıca sinaptik proteinlerden Sinaptofizin ve PSD-95 bakımından pozitiflik saptanmıştır. Kalsiyum iyonu görüntüleme sonuçlarına göre, hem primer iMKH'den (% 74.7) hem de iMKH hatlarından (% 78.5) elde edilen nöronlar herhangi bir dış uyaran olmadan kendiliğinden aktivite göstermiştir. iMKH hattından elde edilen nöronlar, TH ve ChAT ifadeleri bakımından pozitif iken GAD67 bakımından negatif bulunmuştur.

Sonuç: Belirli nörotrofik faktörlerin varlığında, iMKH'lerin fonksiyonel olarak aktif nöronları meydana getirdiği ve fenotipik olarak TH ve ChAT pozitif nöronları ortaya çıkarabildiklerini ilk defa çalışmamız ortaya koymuştur. Sonuç olarak, iMKH'lerden elde edilen nöronların detaylı analiz edilmesi ile bu nöronlar nörodejenerasyon çalışmaları için bir araç olarak kullanılabilir.

Functional Neurons Derived from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

Nurşah Öztunç¹, Nihal Karakaş²

¹*Istanbul Medipol University, Graduate School of Health Sciences, Program of Medical Biology and Genetics, İstanbul*

²*Istanbul Medipol University, School of Medicine, Medical Biology Department, İstanbul*

Objective: Human mesenchymal stem cells (hMSCs) have been major adult stem cell source for cell therapy applications and disease modelling in neurodegeneration due to their transdifferentiation ability into neurons and clinical relevance. So far, several neural induction conditions with various defined factors have been reported for neural cell derivation from hMSCs. In many of these studies, phenotypically convinced neurons from hMSCs faced with poor functional characteristics. Therefore, new neuronal induction methods are ultimately needed. In this study, we analysed functionality and neuronal subphenotypes of neuronal induced hMSCs.

Materials-Methods: Bone marrow hMSCs were neuronal induced in the presence of enriched factors including EGF, FGF-2, FGF-8, NGF, BDNF, dbcAMP and IBMX. Then they were immunofluorescently stained for neuronal protein expressions. After that, neurons from hMSCs were functionally analysed by Calcium ion imaging. The neurons were also characterized for their TH, Chat and GAD67 expressions by flow cytometry.

Results: Almost %100 of hMSC cell lines and 80% of hMSCs from healthy donors differentiated into neuronal cells were positively stained for Nestin, NeuN, NSE, PGP 9.5 as well as for synaptic proteins; Synaptophysin and PSD-95. According to Calcium ion imaging results, neurons from both primary hMSC (74.7%) and hMSC cell lines (78.5%) displayed spontaneous activity without any outside stimulation. hMSC cell line derived neurons were found positive for TH and ChAT expressions while negative for GAD67.

Conclusion: For the first time, our results revealed that in the presence of certain neurotrophic factors, hMSCs give rise to functionally active neurons and phenotypically they can give rise TH and ChAT positive neurons. Consequently, the neurons from hMSCs can be further analysed and then possibly served as a tool for neurodegeneration studies.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 94 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Nörolojik Hastalıklarda VARS T1068M Mutasyonunun İlişkilendirilmesi ve Antikodon Bağlanma Domaininde Kümelenen Mutasyonların Önemi

Seval Kılıç^{1,2}, Tülay Karakulak^{1,2}, Aybike Erdoğan^{1,2}, Semra Hız^{2,3}, Gökhan Karakulah^{1,2}, Güney Bademci⁵, Eresen Çiğdem⁴, Esra Erdal¹, Uluç Yiş³, Mustafa Tekin⁵, Ezgi Karaca¹, Mehmet Öztürk¹

¹İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir

³Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatri Ana Bilim Dalı, İzmir

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, İzmir

⁵Miami Üniversitesi, Miller Tıp Fakültesi, John P. Hussman İnsan Genomik Enstitüsü, Dr. John T. Macdonald Vakfı, İnsan Genetiği Ana Bilim Dalı Miami

Mikrosefali, epilepsi ve çeşitli nörolojik gelişim bozukluklarında, hücre sitoplazmasında ve mitokondride amino asitlerin ilgili tRNA'lara bağlanmasında görevli olan aminoasil tRNA-sentetazlardaki (veya ligaz) mutasyonların rolü literatürde birçok kez gösterilmiştir. Toplamda 37 tRNA-sentetazdan biri olan valil-tRNA ligazdaki (VARS) mutasyonlar da bu fenotiplere yol açmaktadır. Bu çalışmada, mikrosefali ve epilepsi öykülemli yeni doğan hastadan alınan kan örneğinden tüm ekzom sekanslama yöntemiyle T1068M missense mutasyonuna sebep olan yeni bir valil-tRNA gen varyantı bulunmuş ve Sanger dizileme yöntemiyle doğrulanmıştır. Diğer aile bireylerinin genotipi de varyantın bir enzim kesim bölgesini yok etmesinden dolayı kesim reaksiyonu ile doğrulanmıştır. Bu varyant dünyada 0.00002 frekansında görülmüş olmakla beraber herhangi bir klinik vaka ile ilişkilendirilememiştir. Gözlemlenen genotipi bu hastalık fenotipi ile ilişkilendirmek için insandaki VARS proteininin yapısal modellemesi in silico olarak MODELLER ile yapılmıştır. T1068M mutasyonu önceden aynı uzaysal dağılımda raporlanan mutasyonlarla birlikte yorumlanmıştır. Sonuç olarak, T1068M mutasyonunun patojenik 3 diğer mutasyon ile birlikte antikodon bağlanma bölgesinde 15 amino asitlik bir bölgede kümelendiği görülmüştür. Antikodon bağlanma bölgesinde sarmal-kıvrım-sarmal motifinde bulunan bu bölge, raporlanmış tüm VARS mutasyonlarının 4'te 1'ini içermektedir. Önceden raporlanan birçok mutasyon enzimin en büyük domaini olan tRNA-sentetaz domaininde çeşitli lokasyonlarda raporlanmışken antikodon domainindeki mutasyonların bu kadar kısa bir amino asit dizisinde bulunması, bölgenin önemine işaret etmektedir. Bu bölge antikodon bağlanma domaini ve enzimatik bölgenin etkileşim zonunu oluşturmaktadır. Dolayısıyla, yapılan yapısal analizlerde bu mutasyonların hidrofobik ve elektrostatik inter-domain etkileşimlerini azalttığı, dolayısıyla etkileşimi destabilize ettiği görülmüştür. Özellikle burada

ilk kez raporlanan T1068M mutasyonunun yan sarmalla kurulan etkileşim stabilitesinde önemli bir hidrojen bağı yok ettiği görülmüştür. Bu gözlemler sonucunda bu destabilize edici mutasyonların optimum enzim aktivitesini sınırlayabileceği düşünülmektedir. Bu mutasyon kümesini hakkında daha çok bilgi edinilmesinin bu mutasyon sebebiyle epilepsi ve mikrosefali hastası çocuklara fayda sağlayacak, VARS'ın fonksiyonel etkisini artıracak ilaçların geliştirilebilmesine öncülük edeceğini umuyoruz.

Association of VARS T1068M Mutation to Neuro-diseases and the Significance of Clustered Mutations in Anticodon Binding Domain

Seval Kılıç^{1,2}, Tülay Karakulak^{1,2}, Aybike Erdoğan^{1,2}, Semra Hız^{2,3}, Gökhan Karakulah^{1,2}, Güney Bademci⁵, Eresen Çiğdem⁴, Esra Erdal¹, Uluç Yiş³, Mustafa Tekin⁵, Ezgi Karaca¹, Mehmet Öztürk¹

¹Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir

²Dokuz Eylul University, Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Computational and Structural Biology Lab, Izmir

³Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Izmir

⁴Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Izmir

⁵Miami University, Miller School of Medicine, John P. Hussman Human Genomics Institute, Dr. John T. Macdonald Foundation Department of Human Genetics, Miami

Microcephaly, epilepsy and various neurodevelopmental disorders are associated with mutations in aminoacyl tRNA synthetases (or ligases) numerous times in literature. Aminoacyl tRNA-synthetases attach amino acids to their tRNA's by esterification in cell cytoplasm and mitochondria. Mutations in valyl-tRNA ligase (VARS), which is one of 37 tRNA-synthetases also lead to these phenotypes. In this study, valyl-tRNA ligase variant causing T1068M missense mutation was discovered with whole exome sequencing in blood sample of infant with microcephaly and epilepsy and validated by Sanger sequencing. The genotype of other family members was also confirmed by restriction digestion since the variant destroyed a restriction site. Although this variant was reported with 0.00002 worldwide frequency, it was not associated with any clinical cases. To correlate the observed genotype with disease phenotype, structural modeling of the human VARS protein was performed with MODELLER in silico. T1068M mutation was interpreted together with mutations previously reported in the same spatial distribution. It was discovered that T1068M mutation, together with 3 other pathogenic mutations, clustered in 15 amino acid stretch in anticodon binding domain which comprises one fourth of all reported VARS mutations.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 94 SÖZLÜ BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

This clustering in such a short amino acid stretch in anticodon domain indicates the significance of this region. It constitutes the domain interface of the anticodon binding domain and the tRNA synthetase domain. Consequently, it was predicted that these mutations reduce hydrophobic and electrostatic inter-domain interactions and thus have destabilizing effect. Moreover, this novel T1068M mutation is predicted to destroy an important hydrogen bond established with the reciprocal helix. Therefore, these destabilizing mutations can hinder the optimal enzyme activity. We hope that more insight on this cluster of mutations will lead to the development of drugs that can enhance the functional impact of VARS benefiting young children who have epilepsy and microcephaly due to these mutations.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 12 SÖZLÜ BİLDİRİ / ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI

İnflamasyon ile ilişkili nöromusküler hastalıklarda dolaşımdaki mitokondriyal DNA'nın araştırılması

Ayşe Tülay AYDINOĞLU¹, Evrim AKSU-MENGES¹,
Can Ebru BEKİRCAN-KURT², Sevim ERDEM-
OZDAMAR², Ersin TAN², Burcu BALCI-HAYTA¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Nöromusküler Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

Amaç: Nöromusküler hastalıklar, çoğu nadir genetik hastalıklar içerisinde yer almakla beraber, direkt veya dolaylı olarak iskelet kas yapısı ve işlevinin etkilendiği çok geniş sendrom ve hastalıklar grubunu içermektedir. Nöromusküler hastalıkların büyük çoğunluğunda inflamasyon öne çıkan özelliklerdendir. Farklı hastalıklara yönelik yapılan araştırmalar, dolaşımdaki serbest mtDNA'nın (ccf-mtDNA) pro-inflamatuvar bir faktör olarak doğal immün yanıt oluşumunda görev aldığını göstermiştir. Bu çalışmada, inflamasyonla ilişkili nöromusküler hastalıklarda ccf-mtDNA'nın varlığının, miktarının ve inflamasyon sürecindeki olası etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamız kapsamında; (1) otoimmün nöromusküler hastalığa (n=6), (2) sekonder olarak kas dokusunda inflamasyon bulgularının saptandığı kalıtsal nöromusküler hastalıklara (n=6), (3) kas dokusunda inflamasyon gözlenmeyen kalıtsal nöromusküler hastalığa (n=7) sahip bireylere ve (4) sağlıklı kontrol örneklerine (n=6) ait plazmadaki ccf-mtDNA miktarının absolut kantitasyonu yapılmıştır. Bu amaçla, total ccf-DNA içerisindeki yalnızca mtDNA'yı amplifiye edecek özgül primerler kullanılarak RT-qPCR reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve hasta gruplarına ait örneklerdeki bilinmeyen ccf-mtDNA miktarları, miktarı bilinen dış standartlar ile çizilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla kontrol örnekler ile karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Otoimmün hastalıklar grubunda yer alan Myasthenia Gravis (MG)'de; ek tedavi uygulaması yapılmayan hastalarda ccf-mtDNA kopya sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 5,6 kat arttığı saptanırken (p=0.0119), tedavi alan hastalarda 1,8 kat azaldığı belirlenmiştir (p=0.0476). İkinci grupta yer alan Fasioskapulohumeral Kas Distrofisi (FSHD) ve Disferlinopati (LGMD2B) hastalarındaki ccf-mtDNA kopya sayılarının kontrol örneklerle kıyasla değişmediği, üçüncü grupta yer alan Spinal Musküler Atrofi (SMA) hastalığında ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde 2 kat arttığı saptanmıştır (p=0.0017).

Sonuç: Çalışma grubumuzda saptanmış olan ccf-mtDNA kopya sayısı artışı, kas dokusundaki lokal inflamasyondan bağımsız olarak, sistemik inflamasyon bulguları ile ilişkilendirilmiştir. Sonuçlarımız, sistemik

inflamasyon bulgularının görüldüğü farklı kökenleri olan nöromusküler hastalıklarda, ccf-mtDNA'nın inflamasyon yolağına etki edebilecek ortak bir molekül olduğunu düşündürmektedir.

Investigation of the circulating mitochondrial DNA in inflammation related neuromuscular diseases

Ayşe Tülay AYDINOĞLU¹, Evrim AKSU-MENGES¹,
Can Ebru BEKİRCAN-KURT², Sevim ERDEM-
OZDAMAR², Ersin TAN², Burcu BALCI-HAYTA¹

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey

²Department of Neurology and Neuromuscular Diseases Research Laboratory, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey

Objective: Neuromuscular diseases, mostly being among the rare genetic diseases, include a wide range of syndromes and diseases in which directly or indirectly skeletal muscle structure and function are affected. Inflammation is one of the prominent features of the majority of neuromuscular diseases. The research carried out on different diseases showed that circulating cell free mtDNA (ccf-mtDNA) takes part in the development of innate immune response as a pro-inflammatory factor. In this study, our aim was to investigate presence, amount and the potential function of ccf-mtDNA during inflammation process in the inflammatory neuromuscular diseases.

Materials-Methods: In our study; absolute quantitation of the amount of ccf-mtDNA found in plasma of patients with (1) autoimmune neuromuscular diseases (n=6), (2) the hereditary neuromuscular diseases associated with muscle inflammation (n=6) and (3) the hereditary neuromuscular diseases without muscle inflammation (n=7), was done by RT-qPCR. The results were analyzed in comparison with the healthy control samples (n=6). A standard curve of serial dilutions of a known sample was used to measure the absolute number of mitochondrial copy numbers in all plasma samples.

Results: In MG, which is an autoimmune neuromuscular disease, a statistically significant increase in the copy number of ccf-mtDNA by 5,6 fold (p=0,0119) were detected in the patients without any additional treatment compared to control, while there was a statistically significant 1,8 fold (p=0,0476) decrease in the copy number of ccf-mtDNA of the patients who received treatment compared to control. In the second group, there was no statistically significant difference in the ccf-mtDNA copy number in FSHD and LGMD2B patients. In the third group, there was a statistically significant 2-fold increase (p=0,0017) in SMA patients.

Conclusion: It is concluded that, the increase of ccf-mtDNA detected in neuromuscular diseases within our study, might be associated with systemic inflammation findings independent of local inflammation observed in skeletal muscle tissue.

Hacettepe Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi Tarafından desteklenmiştir (Proje no: TYL-2018-17372).



SS – 13 SÖZLÜ BİLDİRİ / ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI

Nadir nöromusküler hastalıklarda mitokondriyal hasar ile ilişkili miRNA ifade profilinin incelenmesi

Evrin Aksu Menges¹, Yeliz Zülfiye Akkaya Ulum¹, Didem Dayangaç Erden¹, Banu Balcı Peynircioğlu¹, Ayşe Yüzbaşıoğlu¹, Beril Talim², Burcu Balcı Hayta¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji D

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik ve Perinatal Patoloji Ünitesi

Amaç: Nöromusküler hastalıklar iskelet kasının işlevini etkileyen çok geniş sendrom ve hastalıklar grubunu oluşturmaktadır. Farklı genetik temelleri olan birçok nöromusküler hastalıkta ortak bir bulgu olarak mitokondriyal işlev ve morfoloji kaybı gözlemlenmektedir. Mitokondriyal hasarın, kas dejenerasyonunun erken safhalarında işlevi olduğunu kanıtlayan araştırmalar mevcut olmakla birlikte miRNA'ların bu yolaktaki potansiyel rolleri güncel araştırma konuları arasında yer almaktadır. Bu çalışmamızın amacı, farklı nükleer genlerin sorumlu olduğu nöromusküler hastalıkların (DMD, Megakoniyal KMD, Ullrich KMD ve alfa-distrogliyanopati) patogeneğinde gözlenen mitokondriyal hasar ile ilişkili ortak miRNA profilinin belirlenmesidir.

Gereç-Yöntem: İskelet kasında mitokondriyal hasar bulguları gözlenen farklı nöromusküler hastalıklara sahip bireylerin (n=12, her gruptan 3 hasta) ve 3 kontrol bireyin iskelet kas biyopsi dokusundan izole edilen RNA'lar ile Affymetrix GeneChip miRNA 4.0 Array yardımıyla miRNA mikrodizin analizi gerçekleştirildi. İfade değişikliği gösteren miRNA'ların belirlenmesi amacıyla, ham veriler TIGR-MEV ve Affymetrix TAC 2.0 veri tabanları yardımıyla analiz edildi ve kat değişimi ≥ 2 ve $p < 0.05$ olan miRNA'lar aday olarak belirlendi. miRWalk 2.0 veritabanı yardımıyla aday miRNA'ların olası hedef genleri listelenerek, hedef genler içerisindeki mitokondriyal yolaklar ile ilişkili olanlar belirlendi. Olası mitokondriyal hedef genlere GENEONTOLOGY-PANTHER veritabanları ile gen kümesi zenginleştirme analizi yapıldı. Mikrodizin sonuçlarını valide etmek amacıyla aday miRNA'ların ifade düzeyleri qRT-PCR ile analiz edildi.

Bulgular: MiRNA mikrodizin analizi sonucunda, 17 miRNA'nın analiz edilen tüm hasta gruplarında ifade değişikliği gösterdiği saptandı ve 17 miRNA içerisinde 10 tanesinin olası hedef genlerinin mitokondriyal yolaklarla ilişkili olduğu belirlendi. İlk dört zenginleştirilmiş mitokondriyal yolakla ilişkili olduğu bulunan altı adet miRNA öncelikli aday olarak belirlendi ve beş miRNA için saptanmış olan ifade artışı, qPCR deneyi ile başarılı bir şekilde valide edildi. Söz konusu miRNA'ların, mitokondri ile ilişkili yollardaki rollerinin belirlenmesi amacıyla işlevsel analizler gerçekleştirilmektedir.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları, mitokondriyal hasarla ilişkili nöromusküler hastalıklar için ortak bir tedavi

hedefi ve/veya biyobelirteç tanımlanması potansiyeli ile literatüre katkı sağlayacaktır.

Mitochondrial damage associated miRNA expression profiling in a group of rare neuromuscular disorders

Evrin Aksu Menges¹, Yeliz Zülfiye Akkaya Ulum¹, Didem Dayangaç Erden¹, Banu Balcı Peynircioğlu¹, Ayşe Yüzbaşıoğlu¹, Beril Talim², Burcu Balcı Hayta¹

¹Hacettepe University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department

²Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Pathology Unit, Sıhhiye 06100, Ankara, Turkey

Objective: Neuromuscular diseases (NMD) include a wide-range of pathologies that impair the function of skeletal muscles. Mitochondrial dysfunction is observed as a common feature of NMDs with different genetic background. It plays an important role in early stages of muscle degeneration and the discovery of miRNAs in this pathway are among the current research topics. In this study, our aim was to identify common miRNA signatures associated with mitochondrial damage in the pathogenesis of different NMD groups (DMD, Megaconial CMD, Ullrich CMD and alpha-dystroglycanopathy), each caused by mutations in different nuclear genes.

Materials-Methods: We performed miRNA profiling of skeletal muscle biopsies from selected NMDs presenting mitochondrial damage (n=12, 3 from each group) and control individuals (n=3) by using Affymetrix GeneChip miRNA 4.0 Array. To identify differentially expressed miRNAs, raw data was analyzed by TIGR-MeV and Affymetrix TAC2.0 and miRNAs with a fold change ≥ 2 and p -value < 0.05 were identified as candidates. We then identified potential target genes of these miRNAs by miRWalk 2.0 and mitochondrial target genes were sorted out from these gene lists. We performed gene enrichment analysis for potential mitochondrial target genes by using GENEONTOLOGY-PANTHER databases. In order to confirm the results of miRNA microarray, the expression of candidate miRNAs were analyzed by qRT-PCR.

Results: Our miRNA microarray analysis revealed that 17 miRNAs were differentially expressed in patients and target genes of 10 miRNAs were found to be involved in mitochondria-related pathways. Six out of 10 miRNAs associated with top four enriched mitochondrial pathways were selected as candidates and differential expression of five miRNAs were confirmed by qRT-PCR. There are ongoing studies to identify the role of these miRNAs in mitochondria-related pathways.

Conclusion: Our study may provide contribution to the literature by identifying common potential therapeutic targets and/or biomarkers for a group of NMDs associated with mitochondrial damage.

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmektedir (Proje no: TSA-2017-14413).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 14 SÖZLÜ BİLDİRİ / ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI

Palmitat ile Muamele Edilen Kemik İliği Kaynaklı Makrofajların RNA-seq Transkriptom Analizi

Pelin Telkoparan Akıllılar¹, Ebru Erbay²

¹Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Ankara

Amaç: Endoplazmik retikulum, protein, lipid ve kalsiyum metabolizmasında kritik bir rol oynar. ER stresi birçok metabolik hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Adipoz olmayan dokularda serbest yağ asitlerinin birikmesi hücrel lipotoksisteye, ve ER stresine neden olur. Katlanmamış protein yanıtı (KPY) endoplazmik retikulumun strese karşı önemli bir adaptasyondur. Bu çalışmada ApoE -/- farelerden izole edilen kemik iliği kaynaklı palmitat ile muamele edilen makrofajların total gen ekspresyon değişimlerini ve bu değişimlerin hücre içi yollarla ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: ApoE -/- farelerin kemik iliğinden izole edilen monositler % 15 (vol/ vol) L929 ile zenginleştirilmiş RPMI-1640 makrofajlara farklılaştırıldı (BMDM). Elde edilen makrofajlar doymuş yağ asidi olan palmitat (1,000 μ M) ile muamele edildi. Kontrol ve palmitat ile muamele edilen örneklerden Trizol (Bioline) ile izole edilen total RNA içeriği, RNA-seq yöntemleri kullanılarak analiz edildi. RNA sekans analizi için Bowtie / TopHat / Cufflinks yazılımları kullanıldı. Log2 ölçeğinde, gen ekspresyonundaki ≥ 1.2 kat ve üzere değişikliklerin anlamlı bir şekilde diferansiyel olarak ifade edildiği kabul edildi. Yolak analizleri IPA biyoinformatik araç kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular: RNA-seq transkriptom analizi sonuçlarına göre, palmitat kaynaklı lipotoksik ER stres sonucunda BMDM örneklerinde 271 genin ekspresyonunun azaldığını ve 169 gen ekspresyonunun ise anlamlı şekilde arttığını gözlemledik. Etkilenen genlerin hücre içi yollarla ilişkilendirmek amacıyla yaptığımız IPA protein yolak analizi sonucu birçok önemli enflamatuar gen ifadesinin değiştiğini belirledik. Bulgularımız gerçek zamanlı-PCR yöntemini kullanarak doğrulandık.

Sonuç: RNA sekans ve IPA protein yolak analizi sonuçları, ER stres yollarının lipid stres altında anahtar enflamatuar genlerin ekspresyonu üzerindeki rolünün güçlü kanıtlarını sağladı. Bu çalışma sonucu elde ettiğimiz bulgular, yeni mekanik bakış açıları ile lipide bağlı ER stres tepkisi ve bağışıklık arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermektedir.

RNA-seq Transcriptome Analysis of Bone Marrow Derived Macrophages Under Palmitate Treatment

Pelin Telkoparan Akıllılar¹, Ebru Erbay²

¹Yüksek İhtisas University Faculty of Medicine, Department of
Medical Biology, Ankara

²Bilkent University, Molecular Biology and Genetics, Ankara

Objective: Endoplasmic reticulum plays a critical role in protein, lipid and calcium metabolism. ER stress is involved in the development of several metabolic diseases. The accumulation of free fatty acids in non-adipose tissues lead to cellular lipotoxicity and also induce endoplasmic reticulum (ER) stress. Unfolded protein response (UPR) is an important adaptation for endoplasmic reticulum stress. In this study we aimed to determine the total gene expression changes and intracellular pathways involved in UPR under palmitate treatment in bone marrow-derived palmitate-treated macrophages isolated from ApoE -/- mice.

Materials-Methods: Bone marrow derived monocytes isolated from ApoE -/- mice and differentiated into macrophages (BMDM) in RPMI-1640 medium enriched with 15 % (vol/vol) L929 conditioned medium. Then, macrophages were treated with saturated fatty acid palmitate (1,000 μ M). Total RNAs were extracted from control and palmitate treated BMDM samples using Trisure (Bioline) and transcriptomes profiles of the samples analyzed using RNA-seq methods. RNA seq analysis was performed using Bowtie/TopHat/Cufflinks software pipeline. On log2 scale, ≥ 1.2 fold changes in gene expression were considered to be significantly differentially expressed. Pathways analysis was performed

Results: Our results showed that the expression of 271 genes was decreased and the expression of 169 genes increased significantly under palmitate-induced lipotoxic ER stress in BMDM samples. IPA pathway analysis results especially identified the upregulation of many important inflammatory genes. Our findings were validated using quantitative (q) RT-PCR.

Conclusion: RNA seq and IPA pathway analysis results provide strong evidence the role of ER stress pathways on the expression of key inflammatory genes under lipid stress. The findings suggest new mechanistic insights lipid induced ER stress response and immunity.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

TEMEL TIPTA İNOVASYON



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 42 SÖZLÜ BİLDİRİ / TEMEL TIPTA İNOVASYON

Akciğer Kanserinde Yeni Saptanan Mutasyonların Klinik Korelasyonu

Aslı Tetik Vardarlı^{1,9}, Levent Pelit^{2,9}, Ceyda Aldag^{3,9}, Korcan Korba^{2,9}, Çağlar Celebi^{1,9}, Tugberk Nail Dizdas^{2,9}, Umut Can Uzun^{2,9}, Eda Tayfur^{1,9}, Ayca Aykut^{4,9}, Haydar Soydaner Karakus^{5,9}, Ertan Baysal^{2,9}, Ozlem Goksel^{5,9}, Fusun Pelit^{2,9}, Femin Yalcin^{6,9}, Fatma Nil Ertas^{2,9}, Yasemin Basbınar^{7,9}, Ali Veral^{8,9}, Cumhuri Gunduz^{1,9}, Tuncay Goksel^{5,9}

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁶İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Mühendislik Bilimleri Bölümü Uygulamalı Matematik ve İstatistik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁷Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, İzmir, Türkiye

⁸Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁹Ege Üniversitesi, Ege Translasyonel Pulmonoloji Araştırma Grubu Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Amaç: Akciğer adenokarsinomu kısa sağkalım oranı ile kötü prognoza sahiptir. Tümörün moleküler yapısını tanımlayan tümör doku biyopsileri, hastalık süresince uygun tanı ve tedavi kararları için gereklidir. Hastalığın seyri sırasındaki tümör biyopsileri oldukça invazivdir ve hastaların takibi için uygun değildir. Prognoz ile ilgili moleküler tanı için invaziv olmayan yeni analiz yöntemleri göz önünde bulundurulmalıdır. Amacımız Akciğer kanseri hastalarının tanı ve takibinde yeni nesil sekanslama yöntemiyle, Likid ve Ekshalat Solunum Kondansat (EBC) örneklerinde genetik mutasyonları belirlemektir.

Gereç-Yöntem: Visit-0'da, Akciğer adenokarsinomlu 10 hastadan EBC, plazma ve parafin doku örnekleri toplandı. Ayrıca hastalardan Vizit-1 (6 olgu) ve Vizit-2 (4 olgu) için EBC ve plazma örnekleri toplandı. Örneklerden, Invitrogen-Pure-Link-Genomic-DNA Kiti ile DNA ekstrakte edildi. Amplikon bazlı dizileme, Ion-Ampliseq Colon ve Lung Cancer gen-panel-v2 kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular: Sonuçlarımız; genetik değişikliklerin parafin doku, likid ve volatil biyopsi örneklerinden belirlenebileceğini gösterdi. Visit-0 için, PIK3CA, MET, PTEN, SMAD4 ve FGFR2 genlerinde tespit edilen mutasyonlar, sekiz vakanın EBC, kan ve parafin doku örneklerinde yüksek derecede korele idi. Visit-1 ve Visit-2'de ise dört olguda kan ve EBC örneklerinde yeni mutasyonlar tespit edildi ve tespit edilen mutasyon profillerinin yüksek düzeyde korele olduğu saptandı.

Sonuç: EBC gibi non-invaziv yöntemler, akciğer kanserinin tanı ve tedavisi sırasında mutasyonları tespit

etmek için umut verici olabilir.

Bu proje TÜBİTAK (1003-216S591) tarafından desteklenmektedir.

Clinical Correlation of Novel Detected Mutations in Lung Cancer

Aslı Tetik Vardarlı^{1,9}, Levent Pelit^{2,9}, Ceyda Aldag^{3,9}, Korcan Korba^{2,9}, Çağlar Celebi^{1,9}, Tugberk Nail Dizdas^{2,9}, Umut Can Uzun^{2,9}, Eda Tayfur^{1,9}, Ayca Aykut^{4,9}, Haydar Soydaner Karakus^{5,9}, Ertan Baysal^{2,9}, Ozlem Goksel^{5,9}, Fusun Pelit^{2,9}, Femin Yalcin^{6,9}, Fatma Nil Ertas^{2,9}, Yasemin Basbınar^{7,9}, Ali Veral^{8,9}, Cumhuri Gunduz^{1,9}, Tuncay Goksel^{5,9}

¹Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İzmir – Turkey

²Ege University, Faculty of Science, Department of Chemistry, İzmir – Turkey

³Ege University, Faculty of Science, Department of Biology, İzmir – Turkey

⁴Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, İzmir – Turkey

⁵Ege University, Faculty of Medicine, Department of Pulmonary Medicine, İzmir – Turkey

⁶İzmir Katip Celebi University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Engineering Sciences, İzmir – Turkey

⁷Dokuz Eylul University, Institute of Oncology, Department of Translational Oncology, İzmir – Turkey

⁸Ege University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, İzmir – Turkey

⁹Ege University, Ege Translational Pulmonology Research Group, İzmir – Turkey

Objective: Lung adenocarcinoma has a poor prognosis with a short survival rate. Tumor tissue biopsies identifying the molecular structure of the tumor are necessary for the appropriate diagnostic and therapeutic decisions throughout the course of the disease. The tumor biopsies during the course of the disease are highly invasive and not suitable for the follow-up of the patients. Novel non-invasive analysis methods should be considered for molecular diagnosis related to prognosis. Our aim is to determine the genetic mutations from Liquid and Exhaled Breath Condensate (EBC) samples by next generation sequencing method for the diagnosis and follow-up of the lung cancer patients.

Materials-Methods: EBC, plasma and paraffin tissue samples were collected at Visit-0 from 10 LA patients. EBC and plasma samples were also collected for Visit-1 (6 cases) and Visit-2 (4 cases) from patients. DNA was extracted from the specimens by Invitrogen-Pure-Link-Genomic-DNA Kit according to the manufacturer's instructions. Amplicon-based sequencing was performed using Ion-Ampliseq Colon and Lung Cancer gene-panel-v2.

Results: Our results showed that genetic alterations can be determined from paraffin tissue, liquid and volatile



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



biopsy specimens. For Visit-0, detected mutations in PIK3CA, MET, PTEN, SMAD4, and FGFR2 genes were highly correlated in EBC, blood, paraffin tissue samples of eight cases. In Visit-1 and Visit-2, novel mutations were detected from blood and EBC samples in four cases and those identified mutation profiles were found to be highly correlated.

Conclusion: The non-invasive methods like EBC could be promising for detecting mutations during the diagnosis and treatment of lung cancer.

This Project is supported by TUBİTAK (1003-216S591)



SS – 43 SÖZLÜ BİLDİRİ / TEMEL TIPTA İNOVASYON

Fonksiyonize altın nanomateriyallerin nöral hücresel etkilerinin multiparametrik analizlerle incelenmesi

İlyas Özçiçek¹, Neşe Altuncu¹, Çağrı Çakıcı²

¹Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi; Regeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Altın nanopartiküller ve nanoçubuklar; üstün özelliklere sahip, biyouyumlu nanomateriyallerdir. Yüzeyleri kolayca fonksiyonize edilerek; ilaç aktarımı, miRNA/siRNA aktarımı, hedefleme, biyosensör, fototermal terapi, hücre/doku görüntülenmesi gibi alanlarda tercih edilmektedir. Birçok nörodejenaratif hastalığın, nöral hücrelere etkin düzeylerde nanoteranostik materyal transfer edilerek; tanılabilmek ve tedavi edilebilmek potansiyeli vardır. Bu çalışmanın amacı; yüzeyleri polietilenimin (PEI) ve polietilen glikol (PEG) ile fonksiyonize edilmiş, monodispers ve stabil altın nanopartiküller ile nanoçubukların sentezlenmesi; DRG primer duyu nöronlarındaki nanotoksikolojik etkilerinin ve biyodağılımlarının multiparametrik olarak araştırılmasıdır. Bu çalışmada; iki farklı çaptaki altın nanopartiküller ile altın nanoçubuklar çekirdek büyütme yöntemiyle sentezlenmiştir. Nanomateriyallerin, PEI ve PEG kullanılarak elektrostatik olarak yüzey kaplamaları gerçekleştirilmiştir. Primer duyu nöronları, BALB/c ırkı farelerden izole edilmiştir. Üç farklı konsantrasyondaki (1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml) nanomateriyal grupları kullanılarak; canlılık ve apoptozis düzeyleri, genel oksidatif stres düzeyleri ölçülmüş ve hücresel alım düzeyleri ICP-MS analizleriyle belirlenmiştir. Yine, nöral hücre iskeleti elemanlarının yapısı immünohistokimyasal analizlerle karakterize edilmiştir. Çekirdek büyütme yöntemiyle, monodispers altın nanopartiküller ile stabil nanoçubuklar sentezlenmiştir. Tüm nanopartikül konsantrasyonlarında, hücresel canlılık % 80'in üzerindedir. Özellikle altın nanoçubuklarda, yüzey fonksiyonizasyonları canlılığı yüksek düzeyde artırmıştır. Apoptozis sonuçları da, canlılık sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Yüzey kaplamaları, ROS üretimini genel olarak önemli düzeyde azaltırken, hücresel altın alımını önemli derecede artırmıştır. Sonuç olarak, fonksiyonizasyon; altın nanomateriyaller için hem nanotoksikolojik açıdan, hem de gelecekteki teranostik kullanım potansiyelleri açısından önemli avantajlar sağlamaktadır.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 217S135 Nolu Proje kapsamında desteklenmektedir.

Investigation of neural cellular effects of the functionalized gold nanomaterials by multiparametric analysis

İlyas Özçiçek¹, Neşe Altuncu¹, Çağrı Çakıcı²

¹Department of Medical Biology, School of Medicine; Regenerative and Restorative Medicine Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

Gold nanoparticles and nanorods are biocompatible nanomaterials with superior properties. They are preferred for drug delivery, miRNA/siRNA delivery, targeting, biosensor, photothermal therapy, cell/tissue imaging by easily functionalizing their surfaces. Many neurodegenerative diseases can be diagnosed and treated by transferring nanoteranostic materials into the neural cells at effective levels. The aim of this study, the synthesis of monodisperse gold nanoparticles and stable gold nanorods functionalized with polyethyleneimine (PEI) and polyethylene glycol (PEG), multiparametric investigation of their nanotoxicological effects and biodistributions in the dorsal root ganglion (DRG) primary sensory neurons. In this study, two different size groups of gold nanoparticles and gold nanorods were synthesized by using seeding growth method. The surface coatings of the nanomaterials were electrostatically applied using PEI and PEG. DRG primary sensory neurons were isolated from BALB/c mice. Using three different concentrations of nanomaterial groups (1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml), viability, apoptosis and general oxidative stress levels were measured and cellular uptake levels were quantified by ICP-MS analysis. The structure of the neural cell skeleton elements was characterized by immunocytochemical analyzes. Using seeding growth method, monodisperse gold nanoparticles and stable gold nanorods were synthesized. For all the nanoparticle concentrations, viability was above 80%, especially in the gold nanorod groups, functionalizations have increased cellular viability at a high level. Apoptosis results were similar to viability results. Surface coatings generally reduced ROS production significantly, while increased cellular uptake. As a result, functionalization provides important advantages for gold nanomaterials both in terms of nanotoxicology and the potential teranostic applications in the future.

This study is supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (Grant no: 217S135).



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ ETİK ve HUKUK



SS – 041 SÖZLÜ BİLDİRİ / ETİK ve HUKUK

Yaşam Bilimleri ve Araştırma Biyobankaları: Etik Düzenlemeler

Ece Akhan Güzelcan¹, Ayşe Yüzbaşıoğlu², Meral Özgüç²

¹Hacettepe Üniversitesi, Genomik ve Nadir Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜGEN), Ankara, Turkey

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı & Hacettepe Üniversitesi, Genomik ve Nadir Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜGEN), Ankara, Turkey

İnsan biyolojik örnek biyobankaları biyomedikal gelişmeler için çok önemli olanaklar yaratmaktadır. Taniya yönelik veya temel araştırma gibi amaçları olan biyobankalar; toplum temelli veya hastalık temelli (nadir hastalık biyobankası, kanser doku biyobankası, kök hücre biyobankası vb) olarak ayrılabilir. Biyobankalar kişiselleştirilmiş tıbbın da önemli bir bileşenidir ve toplumların hastalık risklerinin belirlenmesinde, ilaç ve biyobelirteçlerin keşfedilmesi ve doğrulanmasında önemli bir rol oynar. Hastalara yeni bir yaklaşım olan bu kişiselleştirilmiş tıp -multiomics yöntemleri (proteomik, metabolomik ve epigenomik), sistem tıbbi, biyoinformatik, ve biyobankalar gibi birçok farklı alan tarafından desteklenmektedir. Bu çalışmalarda kullanılan örneklerin kaliteleri çalışmaların güvenilirliği için çok kritiktir. Biyobankalar, örneklerin belirli bir kalitede eldesinden, işlenmesinden, saklanması ve paylaşılmasından sorumludur. Araştırma biyobankalarının etkinliklerini belirleyen ve özellikle örnek bağışında bulunan kişilerin haklarını düzenleyen bazı etik ve yasal kurallara ihtiyaç vardır. Örnek eldesi sırasında kişilere uluslararası normlara göre kabul gören “geniş onam” formu imzalatılarak onamları alınır, böylece mahremiyetlerinin ve otonomilerinin korunması sağlanır. Geniş onam, onamın alındığı tarihte tanımlanmamış ancak gelecekte onamın alındığı çerçevede yapılacak olan çalışmalar için tekrar rızaları alınmadan kişilerin örneklerinin ve/veya verilerinin kullanılabilmesi adına verdikleri rızadır. Daha sonra, örnek sahiplerine yapılan bir kodlama yöntemiyle kişi verilerini anonimleştirilerek kişisel verinin gizliliği sağlanmış olur. Araştırma biyobankalarında, verilerin ve bilgilerin uzun soluklu saklanması, düzenlenmesi ve tekrar kullanıma açık olması gerekir. Bu sorunları çözmek adına FAIR (Findability (Bulunabilirlik)), Accessibility (Ulaşılabilirlik), Interoperability (Ortak çalışılabilirlik), ve Reusability (Geri kullanılabilirlik) ilkesi geliştirilmiştir. Bu ilke, verinin bilgi teknolojileri kullanılarak takibini, kullanımını ve ihtiyaç halinde tekrar kullanımını destekler. Verileri paylaşırken, Fikri Mülkiyet Hakları ve “Biyolojik Materyal Transfer Anlaşması” düzenlenerek paylaşım sırasında oluşan etik sorunlara çözümler aranmaktadır. Veri paylaşımı için yasal ve etik çerçeveler çizilmektedir. AB’de yürürlüğe giren GDPR’a (General Data Protection Regulation 2016/679) karşılık ülkemizde 2016 yılında yürürlüğe giren 6698 sayılı Kişisel Verinin Korunması Yasası

biyobankaların veri paylaşımı çözümü için baş vurabilecekleri bir düzenlemedir.

Life Sciences and Research Biobank: Ethical Regulations

Ece Akhan Güzelcan¹, Ayşe Yüzbaşıoğlu², Meral Özgüç²

¹Hacettepe University, Center for Genomics and Rare Diseases, Ankara, Turkey

²Hacettepe University, Department of Medical Biology Faculty of Medicine & Hacettepe University, Center for Genomics and Rare Diseases, Ankara, Turkey

Human biological sample biobanks provide crucial opportunities for biomedical developments. Biobanks with diagnostic or basic research purposes; can be divided into population based or disease based (rare disease biobank, cancer tissue biobank, stem cell biobank, etc.). Biobanks are also an important component of personalized medicine and play an important role in determining the disease risks of communities and the discovery and verification of drugs and biomarkers. Personalized medicine are supported by many different fields, such as -multiomics methods (proteomics, metabolomics and epigenomics), system medicine, bioinformatics, and biobanks. The quality of the samples used in these studies is very critical for the reliability of the studies. Biobanks are responsible for the collection, processing, storage and sharing of samples of a certain quality and require ethical and legal rules that determine their activities and rights of sample donors. During the sample collection, consent is obtained by signing on the ‘Broad Consent’ form, therefore protecting their privacy and autonomy. Broad consent is the consent of the individuals for their samples and / or data to be used without prior consent for studies which are not defined on the date of approval, but which will be carried out within the framework of the consent. Afterwards, an encoding is made to anonymize the personal data to ensure the privacy. FAIR principles (Findability, Accessibility, Interoperability, and Reusability) have been developed for long term data and information storage, organization and re-use. This principle supports the monitoring, use and re-use of data using information technologies. While sharing the data, Intellectual Property Rights and “Biological Material Transfer Agreement” are arranged. In contrast to GDPR (General Data Protection Regulation 2016/679), which is enacted in the EU, the Personal Data Protection Law no.6698 was entered into force in Turkey in 2016 for a regulation that biobanks can apply for data sharing.

Hacettepe Üniversitesi Nadir Hastalıklar Biyobankası European Joint Programme of Rare Disease (EJP-RD 2019- xx) (KİMİN-resmi sahip) proje üyesi olup biyobanka eğitim iş paketinde yer almaktadır Avrupa Nadir hastalık (European Biobank-EBB) Üyesidir



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ EPIGENETİK



SS – 085 SÖZLÜ BİLDİRİ / EPİGENETİK

Glioma gelişiminde ve ilaç tepkisinde etkili olan esansiyel kromatin düzenleyicilerin incelenmesi

Ezgi Yağmur Kala, Alişan Kayabölen, Özlem Yedier Bayram, Tunç Morova, Fırat Uylur, Nathan Lack, Tamer Önder, Tuğba Bağcı Önder

Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sarıyer, İstanbul

Amaç: Glioblastoma Multiforme (GBM), tip IV astrositom olarak karakterize edilmiştir ve gliomalar arasında en yaygın ve agresif olanıdır. Standart tedavi, tümörün cerrahi olarak çıkarılması, radyasyon ve kemoterapiden oluşmaktadır; ancak GBM hastalarının hayatta kalma oranı 15 ay ile sınırlıdır. Dünyada kullanılan tek kabul edilmiş kemoterapötik ajan, DNA alkilleyici ajan Temozolomide'dir (TMZ). TMZ'nin etkisi, TMZ tarafından üretilen O6 guanin metil grubunu ortadan kaldıran O-6-metilguanin metil transferaz (MGMT) enzimi ile tersine çevrilebilir. MGMT ekspresyonunun ve aktivitesinin promotor metilasyonu yoluyla susturulması daha iyi TMZ yanıtı ile ilişkilidir. Bu nedenle, GBM'de ve tedavi direncinde daha rol oynayan epigenetik faktörlerin araştırılması önemlidir.

Gereç-Yöntem: Kromatin düzenleyicilerin GBM sağ kalımı ve TMZ direncindeki rollerini sistematik olarak incelemek için, Epigenetic Knock-Out Library (EPIKOL) adlı CRISPR-Cas9 gen düzenleme sistemine dayanan bir kütüphane geliştirdik. EPIKOL, gen başına 10 gRNA ile 800 geni hedefler ve epigenetik değiştiricileri içerir. Esansiyel genler ve herhangi bir geni hedeflemeyen gRNA'lar da kütüphanede kontrol olarak bulunmaktadır.

Bulgular: Bu çalışmada, bir GBM hücre dizisi olan U87MG ile bir kütüphane taraması yapılmış ve TMZ-duyarlılaştırıcı kromatin değiştiricileri belirlemek için düşük bir doz TMZ uygulanmıştır. Hücre büyümesi ve TMZ yanıtı için gerekli olan kromatin düzenleyici proteinler, yeni nesil sekanslama ile belirlenmiştir. Benzer taramalar TMZ-dirençli hücre dizileri ile yapılacaktır.

Sonuç: Bu taramaların sonuçları, GBM büyümesini ve ilaç direncini düzenleyen ve sonunda GBM için yeni terapötik araçlar geliştirmeye yardımcı olan epigenetik mekanizmaları anlamamızı sağlayacaktır.

Examining chromatin modifiers essential for glioma growth and drug response

Ezgi Yağmur Kala, Alişan Kayabölen, Özlem Yedier Bayram, Tunç Morova, Fırat Uylur, Nathan Lack, Tamer Önder, Tuğba Bağcı Önder

Koç University, School of Medicine, Sarıyer, Istanbul

Objective: Glioblastoma Multiforme (GBM) is the most common and aggressive type of glioma, which is characterized as type IV astrocytoma. The standard-of-care includes surgical removal of the tumor, irradiation and chemotherapy; but the survival rate of GBM patients is limited to 15 months. The only accepted chemotherapeutic agent used worldwide is the DNA alkylating agent Temozolomide (TMZ). The effect of TMZ can be reversed by the O-6-methylguanine methyltransferase (MGMT) enzyme; and silencing of MGMT expression and activity through promoter methylation is associated with better TMZ response. Therefore, understanding the roles of epigenetic factors in GBM and therapy resistance is crucial.

Materials-Methods: To examine the roles of chromatin modifiers in GBM survival and TMZ resistance systematically, we developed a library that is based on CRISPR-Cas9 gene editing system, called Epigenetic Knock-Out Library (EPIKOL). EPIKOL targets 800 genes with 10 gRNA per gene and includes epigenetic modifiers. Essential genes and non-targeting gRNAs are also present in the library as controls.

Results: A library screen was performed with a GBM cell line, U87MG, and a low dose of TMZ was applied to determine the TMZ- sensitizing chromatin modifiers. The chromatin modifying proteins essential for cell growth and TMZ response were determined by next generation sequencing. Similar screens will be conducted with TMZ-resistant cell lines.

Conclusion: The results of these screens will allow us to understand the epigenetic mechanisms, which regulate GBM growth and drug resistance and eventually help to develop novel therapeutic tools for GBM.

Bu proje, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmektedir (Proje No: 216S461).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 086 SÖZLÜ BİLDİRİ / EPİGENETİK

Polikistik Over Sendromlu Hastalarda GAS6 ve TAM Gen Polimorfizmlerinin Etkisi

Gamze Gizem Tekeli¹, Cihan Kaya², Ece Bahçeci², Murat Tekin², Derya Özavcı¹, Özlem Bingöl Özakpınar¹

¹Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi, Kadın Doğum Anabilim Dalı İstanbul

Amaç: Polikistik over sendromu (PKOS), patofizyolojisi, genetik geçişi, ilgili genlerin rolleri ve gen regülasyonu tam olarak aydınlatılamamış bir hastalıktır. İnsülin direnci, inflamasyon, obezite ve Tip 2 Diyabetin hastalığın oluşumunda rol oynadığına dair çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Gas6 endotel, düz kas hücreleri, makrofaj ve adipositler tarafından salgılanan K vitaminine bağımlı bir proteindir. Tyro3, Axl ve MerTK reseptör tirozin kinaz (TAM) olarak adlandırılan reseptörler ile etkileşime girer. Son yapılan çalışmalar, Gas6 ve TAM polimorfizmin obezite, sistemik inflamasyon ve insülin direncinin patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada PKOS hastalığı ve GAS6/TAM reseptör polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. **Gereç-Yöntem:** Bu çalışmaya 80 PKOS'lu hasta ile 52 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Gas6 için rs8191974 ve rs1803628; Tyro-3 için rs2289743 ve rs2277537; Axl için rs2304232 ve rs2304234; Mer için rs869016 ve rs4374383 SNP 'leri kullanıldı ve genotipleme Real-Time PZR ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Axl geni SNP varyantında (rs2304234) CC genotipine sahip olmanın hastalık açısından kontrole kıyasla 2,33 kat risk oluşturduğu saptandı ($p=0,04$). Benzer şekilde, C alleleline sahip olmanın hastalık açısından kontrole kıyasla 1,66 kat risk taşıdığı belirlendi ($p=0,05$). GAS6 geni SNP varyantının (rs8191974) genotip dağılımı bakımından hasta ve kontrol arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,12$) fakat C alleli taşıyan bireylerde hastalık oluşturma riski T alleli taşıyan bireylere göre 1,85 kat daha fazla bulundu ($p=0,027$). **Sonuç:** Çalışmamız PKOS'ta GAS6/TAM polimorfizmin rolü olabileceğini ortaya koyan ilk çalışmadır. Bu varsayımı doğrulamak ve hastalıkla en iyi şekilde bağlanabilecek olası genetik bileşenleri belirlemek için daha geniş popülasyonlara sahip başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

The Effect of GAS6 and TAM Gene Polymorphisms in Patients with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)

Gamze Gizem Tekeli¹, Cihan Kaya², Ece Bahçeci², Murat Tekin², Derya Özavcı¹, Özlem Bingöl Özakpınar¹

¹Marmara University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, İstanbul

²Sağlık Bilimleri University Bakırköy Dr Sadi Konuk Training and Research Hospital, Department of Gynecology and Obstetrics, İstanbul

Objective: PCOS is a disease whose pathophysiology, genetic transmission, roles of related genes and gene regulation are not fully understood. There are many studies showing that insulin resistance, inflammation, obesity and Type 2 Diabetes play a role in the development of the disease. Gas6 is a vitamin K-dependent protein secreted by endothelium, smooth muscle cells, macrophages and adipocytes. It interacts with receptors called Tyro3, Axl and Mer receptor tyrosine kinase (TAM). Recent studies suggest that Gas6/TAM polymorphism may play a role in the pathogenesis of obesity, systemic inflammation and insulin resistance. Therefore, we aimed to investigate the relationship between PCOS and GAS6/TAM receptor polymorphisms in this study.

Materials-Methods: 80 patients with PCOS and 52 healthy volunteers were included. rs8191974 and rs1803628 for the GAS6; rs2289743 and rs2277537 for the TYRO-3 gene; rs2304232 and rs2304234 for the AXL gene; rs869016 and rs4374383 for the MER were used and genotyping was performed by Real-Time PCR.

Results: In the SNP variant of Axl (rs2304234), having a CC genotype was found to have a 2.33-fold higher risk for disease compared to control ($p = 0.04$). Similarly, having a C allele had a 1.66-fold higher risk of disease than control ($p = 0.05$). There was no significant difference in genotype distribution of SNP variant of GAS6 (rs8191974) between patient and control ($p = 0.12$), but the risk of disease carrying C allele was 1.85 times higher than those with T ($p = 0.027$).

Conclusion: Our study is the first to demonstrate the role of GAS6/TAM polymorphism in PCOS. Further studies with larger populations are needed in order to validate this assumption, as well as to determine the possible genetic components that could be best linked to the disease.

Bu çalışma Yüksek Lisans tez çalışması olup, SAG-C-YLP-110718-0435 numara ile M.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 087 SÖZLÜ BİLDİRİ / EPİGENETİK

Dabrafenib ve Epigallokatesin-3-gallat Uygulanmış Anaplatik Tiroid Kanser Modelinde Epigenetik Düzenleyici Genlerin Profillenmesi

Nihal Birden, Nur Selvi Günel, Neslihan Pınar Özates Ay, Cumhuriyet, Çığır Biray Avcı

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Amaç: Anaplastik tiroid kanser, tiroid kanserlerin %2'sini oluşturmaktadır ve % 40 ölümle sonuçlanmaktadır. Moleküler patogenezi halen çalışılmakta olan ATK'ler standart kemoterapötiklere direnç göstermektedir. Prognostu kötü seyreden ATK olgularının %45'inde BRAFV600E mutasyonu saptanmaktadır. BRAF mutasyonu tiroid kanserinde DNA üzerinde anormal metilasyona sebep olarak epigenetik modifikasyonlarla da ilişkilendirilmektedir. Dabrafenib (Dab) MAPK sinyal yolağındaki b-raf onkogenini hedef alan ilaçtır. Yeşil çayda en çok bulunan doğal polifenol bileşik olan Epigallokatesin-3-gallat (EGCG), DNA metil transferaz inhibitörüdür. Bu çalışmada ATK modelinde antitumor etkiyi arttırmak amacıyla Dabrafenib ve EGCG kombine uygulaması sonrası epigenetik mekanizmalarda görevli genlerin incelenmesi hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem: İn vitro ATK modeli olarak BRAF V600E/mut SW-1736 hücre hattı kullanılmıştır. Dab ve EGCG sitotoksik etkisi WST-8 yöntemi ile belirlenmiştir. Epigenetik düzenleyici enzimleri kodlayan 84 genin ekspresyon değişimleri gerçek zamanlı qRT-PCR ile tespit edilmiştir.

Bulgular: SW-1736 hücrelerine ilk kez uygulanmış olan Dab ve EGCG kombinasyonunun, konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığı ve birlikte aditif etki gösterdiği tespit edilmiştir. 48. saat için IC50 dozları Dab 6,7 µM ve EGCG 22,5 µM, bulunmuştur. Epigenetik mekanizmalarda görevli 24 gende anlamlı ekspresyon değişiklikleri tespit edilmiştir. ESCO2 gen ekspresyonu Dab ve EGCG uygulamaları sonrası sırasıyla 14,3 ve 15,1 kat azalırken, KDM6A da 6 ve 3 kat artış gözlenmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak SW-1736 hücrelerine sitotoksik dozlarda Dab ve EGCG uygulamasının birlikte anti-tumor etkiyi aditif olarak artırdığı gösterilmiştir. Bulgularımız doğrultusunda, kromatin regülatörlerinin profili Dab ve EGCG'nin ATK modelinde epigenetik etki mekanizmasının araştırılmasında ileri moleküler çalışmalar için literatüre katkı sağlamıştır.

Epigenetic Regulatory Gene Profiling in Anaplastic Thyroid Cancer Model treated with Dabrafenib and Epigallokatesin-3-gallat

Nihal Birden, Nur Selvi Günel, Neslihan Pınar Özates Ay, Cumhuriyet, Çığır Biray Avcı

Ege University Medical Faculty, Medical Biology, İzmir

Objective: Anaplastic thyroid cancer occurs in 2% ratio and responsible for 40% of thyroid cancer death. ATCs, whose molecular pathogenesis is still unclear, are resistant to standard chemotherapeutics. ATC cases with poor prognosis are considered to be responsible for 45% BRAFV600E mutation. It's also associated with epigenetic modifications by causing abnormal methylation on DNA in thyroid cancers. Dabrafenib (Dab) is a drug targeting the b-raf oncogene in MAPK signal pathway. Epigallokatesin-3-gallat (EGCG), the most common natural polyphenol compound in green tea, is a DNA methyl transferase inhibitor. In this study, we aim to determine the genes related in epigenetic mechanisms after combined treatment of Dab and EGCG in order to increase anti-tumor effect in ATC model.

Materials-Methods: BRAF V600E/mut SW-1736 cell line was used as an in vitro ATC model. The cytotoxic effects of Dab and EGCG were determined by using WST-8 test. The expression changes of 84 key genes encoding epigenetic regulator enzymes were analyzed by real time qRT-PCR

Results: It was determined that Dab and EGCG combination which was the first applied on SW-1736 cells reduced cell viability significantly depending on concentration together. The determined IC50 doses were Dab 6.7 µM and EGCG 22.5 µM for 48 hours. Significant expression changes were detected in 24 genes that are involved in epigenetic mechanisms. While ESCO gene expression decreased 14.3 and 15.1 fold respectively after Dab and EGCG treatments, KDM6A increased 6 and 3 fold.

Conclusion: As a result it's indicated that cytotoxic doses of Dab and EGCG combination treatment in SW1736 cells increased anti-tumor effect additively. According to our results, profiling of chromatin regulators contributed to the literature for the advanced molecular studies in the investigation of epigenetic effect mechanism of Dab and EGCG on ATC model.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 088 SÖZLÜ BİLDİRİ / EPİGENETİK

Maternal dolaşımındaki lökositlerde miR-21-3p ve miR-155-5p ile preeklampsia arasındaki ilişkinin belirlenmesi

Selin Demirel¹, Meryem Hocaoglu², Abdulkadir Turgut³, Ayşe Evrim Bayrak¹

¹Istanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

²Istanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum, İstanbul

³Istanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Preeklampsia (PE), hipertansiyon ve proteinüri gibi çeşitli semptomlarla sebep olan hamileliğe özgü bir hastalıktır. miRNA'lar küçük, endojen, kodlamayan RNA'lar olup gen ifadesinin düzenlenmesinde görev alırlar. Maternal lökositler PE'nin patogeneğinde önemli bir rol oynar. Bu çalışmada, hem preeklampsia ile maternal kan lökositlerindeki aday miRNA'lar arasındaki ilişkinin hem de bu miRNA'lar ile preeklampsinin başlangıç zamanı ve şiddeti arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Erken başlangıçlı hafif PE (n=24), erken başlangıçlı ağır PE (n=24), geç başlangıçlı hafif PE (n=24), geç başlangıçlı ağır PE (n=24) ve sağlıklı kontrol (n=26) maternal kan lökositlerinde literatüre göre aday olarak seçilen miR-21-3p ve miR-155-5p ifade düzeyleri kantitatif RT-PCR ile belirlenerek elde edilen değişim katsayıları (RQ) ve preeklampsia ile olan ilişkileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: miR-21-3p ekspresyon düzeyi geç hafif PE'de (RQ değeri=1.1 ± 1.4, p=0.015) ve erken hafif PE'de (RQ değeri=1.0 ± 0.8, p=0.033) kontrol grubuna (RQ değeri=1.7 ± 1.3) göre anlamlı olarak azaldığı belirlendi. miR-155-5p ekspresyon düzeyi geç hafif PE'de (RQ değeri=1.1 ± 2.1, p=0.012) kontrole (RQ değeri: 1.7 ± 1.6) göre anlamlı olarak azalmaktadır.

Sonuç: PE hastalarının kan/serum/plazma örneklerinde miRNA ifade düzeylerini belirlemeye yönelik validasyon çalışmaları ile birlikte çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bununla birlikte, sadece sınırlı sayıda PE hastalarının lökositlerinde miRNA çalışması mevcut olup inflamasyonla ilişkili bu iki aday araştırılmamıştır. Çalışmamızda maternal kan lökositlerinde azalmış miR-155-5p ve miR-21-3p ekspresyon seviyelerinin PE'nin klinik alt tipleri ile ilişkili olduğu bulundu. Bu sonuç PE'deki sistemik enflamatuvar yanıtla ilgili olabilir.

Determination of the relationship between miR-21-3p and miR-155-5p and preeclampsia in maternal circulating leukocytes

Selin Demirel¹, Meryem Hocaoglu², Abdulkadir Turgut³, Ayşe Evrim Bayrak¹

¹Department of Genetics, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Istanbul University, Istanbul

²Department of Obstetrics and Gynecology, Goztepe Training and Research Hospital, Istanbul Medeniyet University, Istanbul

³Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Istanbul Medeniyet University, Istanbul

Objective: Preeclampsia (PE) is a pregnancy-specific disease associated with various symptoms also hypertension and proteinuria. miRNAs are small, endogenous, non-coding RNAs that are involved in the regulation of gene expression. Maternal leukocytes play an important role in the pathogenesis of PE. The aim of this study was to show both the relationship between preeclampsia and candidate miRNAs in maternal blood leukocytes and the relationship between these miRNAs and the onset and severity of preeclampsia.

Materials-Methods: The expression levels of miR-21-3p and miR-155-5p of maternal blood leukocytes which early-onset mild PE (n = 24), early-onset severe PE (n=24), late-onset mild PE (n=24), late-onset severe PE (n = 24) and healthy control (n = 26) were determined by quantitative RT-PCR and the coefficients of variation and their relationship with preeclampsia were evaluated statistically.

Results: miR-21-3p expression level decreased significantly in late mild PE (RQ value=1.1 ± 1.4, p=0.015) and early mild PE (RQ value=1.0 ± 0.8, p=0.033) compared to the control group (RQ value= 1.7 ± 1.3). miR-155-5p expression level decreased significantly in late mild PE (RQ value=1.1 ± 2.1, p=0.012) compared to control group (RQ değeri: 1.7 ± 1.6).

Conclusion: A large number of studies have been performed using miRNA profiling coupled with validation studies of miRNAs in blood/serum/plasma of PE patients. However, only a few published studies reported investigations in the area of miRNAs from leukocyte of patients with PE. In our study, down-regulated miR-155-5p and miR-21-3p expression levels in maternal blood leukocytes are found to be associated with clinical subtypes of PE. This result may relate to the systemic inflammatory response in PE.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ

İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 036 SÖZLÜ BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

HLA-DR53 Haplotiplerindeki PRKRAP1 Psödogeninin Akut Lenfoblastik Lösemi ile İlişkisi

Çağla Yavuz¹, Fatma Savran Oğuz¹, Çiğdem Kekik Cınar¹, Hayriye Şentürk Çiftçi¹, Tevfik Dorak², Zeynep Karakaş³

¹*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye*

²*Kingston University, School of Life Sciences, Pharmacy and Chemistry, London- UK*

³*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Hematoloji ve Onkoloji Bölümü, Çocuk Bölümü, İstanbul-Türkiye*

Amaç: HLA sınıf II aleller ve çocukluk lösemi arasındaki ilişki bazı çalışmalarda bildirilmiştir. HLA-DR53 (HLA-DRB4) homozigosite sıklığının özellikle çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemili (ALL) erkek hastalarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda, erkek ve kadın hastalarda protein kinaz EIF2AK2 psödojen 1 (PRKRAP1) pozitifliği ile indüklenen interferonun HLA-DR53 marker protein aktivatörü ile ALL hastalığı ve HLA-DR53 haplotipleri arasındaki korelasyon olduğunu göstermek için sağlıklı kontrolleri karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: 60 ALL hastası ve 100 sağlıklı kontrol çalışıldı. HLA alelleri, sekansa özgü primer-polimeraz zincir reaksiyonu (SSP) kullanılarak analiz edildi. PRKRAP1 psödojen pozitifliği çoklu Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile tanımlanmış ve PRKRAP1 polimerizmi (rs 2395185) gerçek zamanlı PCR ile çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda, tüm grupta PRKRAP1 psödojen pozitifliği HLA-DRB4 haplotipine spesifik olarak gösterilmiştir. HLA-DRB1*04, DRB1*07 alellerinin erkek hastalarda (% 43.5,% 25.0) kadın hastalardan (% 25.0,% 21.4) daha yüksek olduğunu ancak farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gözlemledik. HLA-DRB4 alel insidansı hasta grubunda (% 83.3) kontrol grubuna (% 72.5) göre yüksek olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çocukluk çağı ALL hastalarında PRKRAP1 psödojen varyantı T alel, HLA-DRB4 alel ve HLA-DRB4 homozigot prevalansı, erkeklerde kadınlardan anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.044$, $p=0.007$, $p=0.045$). Ayrıca, ALL'li hastaların sağlıklı kontrollerden daha yüksek DRB1*07 alel sıklığına sahip oldukları görülmüştür ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.007$).

Sonuç: Çalışmamızda, HLA-DRB4 haplotiplerinde henüz karakterize edilmemiş ek DNA olabileceği düşünülmektedir. Yeni tanımlanan belirli bir transkripsiyon haritasında, HLA-DRB4 haplotipleri için özel olarak tanımladığımız PRKRAP1 psödogeninin moleküler mekanizması araştırılabilir ve bunun ALL ile ilişkisi belirlenebilir.

Association of PRKRAP1 Pseudogene in HLA-DR53 Haplotypes with Acute Lymphoblastic Leukemia

Çağla Yavuz¹, Fatma Savran Oğuz¹, Çiğdem Kekik Cınar¹, Hayriye Şentürk Çiftçi¹, Tevfik Dorak², Zeynep Karakaş³

¹*İstanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul-Turkey*

²*Kingston University, School of Life Sciences, Pharmacy and Chemistry, London- UK*

³*İstanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Division of Hematology and Oncology, Department of Pediatrics, Istanbul-Turkey*

Objective: The association between HLA class II alleles and childhood leukemia have been reported in a number of studies. It has been observed that the frequency of HLA-DR53 (HLA-DRB4) homozygosity is higher specifically in male patients with childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). In our study, we aimed to compare the HLA-DR53 marker protein activator of interferon induced by protein kinase EIF2AK2 pseudogene 1 (PRKRAP1) positivity in male and female patients and healthy controls to show that the correlation between ALL disease and HLA-DR53 haplotypes.

Materials-Methods: Sixty ALL patients and 100 healthy controls were studied. HLA alleles were analyzed by using polymerase chain reaction- sequence-specific primer (PCR-SSP). The PRKRAP1 pseudogene positivity have been identified by multiple PCR and the PRKRAP1 polymorphism (rs 2395185) have been studied by real-time PCR.

Results: PRKRAP1 pseudogen positivity in the whole group was shown to be specific to HLA-DRB4 haplotype. We observed that HLA-DRB1*04, DRB1*07 alleles were higher in male patients (43.5%, 25.0%) than the female patients (25.0%, 21.4%) but differences was not statistically significant. Although the incidence of HLA-DRB4 allele was higher in the patient group (83.3%) than in the control group (72.5%) but it was not statistically significant. The prevalence of the PRKRAP1 pseudogene variant T allele, HLA-DRB4 allele and HLA-DRB4 homozygous in childhood ALL patients were significantly higher in males respectively ($p=0.044$, $p=0.007$, $p=0.045$). Also, the patients with ALL appeared to have higher frequencies of DRB1*07 allele than healthy controls and this difference was statistically significant ($p=0.007$).

Conclusion: In our study, it is thought that there may be additional DNA that has not yet been characterized in HLA-DRB4 haplotypes. The molecular mechanism of PRKRAP1 pseudogenesis, which we have identified specifically for HLA-DRB4 haplotypes, in a newly identified specific transcription map can be investigated and its relationship with ALL can be determined.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 036 SÖZLÜ BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

*Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (2017) Proje No: 23378.
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2019.*



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 037 SÖZLÜ BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda monosit alt grupları, toll like reseptör ifadeleri ve inflamasyon parametreleri

Demet Kıvanç¹, Hayriye Çifçi Şentürk¹, Fatma Savran Oğuz¹, Mehmet Şükrü Sever²

¹*İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Nefroloji Bölümü, İstanbul*

Amaç: Bu çalışmada prediyaliz dönemdeki kronik böbrek yetmezlikli hastalarda ve hemodiyaliz (HD)/hemodiyafiltrasyon (HDF) ile tedavi edilen son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda (SDBY) inflamasyon patogeneğinde monosit alt grupları, toll like reseptör (TLR) ifadesi ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α)'nın rolü araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya, 120 hasta (hemodiyaliz, hemodiyafiltrasyon, prediyaliz) ve 30 sağlıklı olmak üzere toplam 150 kişi dahil edildi. Hasta ve kontrol gruplarında serum C-reaktif protein (CRP), CD14++ CD16-, CD14+CD16++ monosit alt grupları oranları, TLR2/TLR4 ifadesi, TNF- α düzeyleri araştırıldı. Monosit alt grubu oranları ve TLR, akım sitometri yöntemi ile serum TNF- α , enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: Diyaliz hastalarında, klasik ve proinflatuar monositler, prediyaliz KBY hastalarına göre (p:0.0001, p:0.078) yüksek bulundu. TNF- α düzeyi, diyaliz ve prediyaliz KBY hastalarında sağlıklı kontrollerle göre yüksekti (p:0.013, p:0.022). Ayrıca diyaliz hastalarında TNF- α düzeyleri, prediyaliz KBY hastalarına göre (p: 0.004) ve diyaliz hastalarında klasik monositlerde ifade edilen TLR2 oranı prediyaliz hasta grubuna göre yüksek bulundu (p:0.001).

Sonuç: KBY hastalarında monosit alt grupları ve TLR2 ifadesindeki artış ile yüksek TNF- α düzeylerinin inflamasyonla ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca KBY sürecinde oluşan inflamasyon diyaliz işlemi sırasında maruz kalınan faktörlerin de katkısı ile daha da belirgin hale gelmekte ve buna bağlı olarak doğal immün yanıtta yer alan monosit alt grubu oranı dengesinde de değişim görülmektedir. KBY hastalarında morbidite ve mortaliteye katkı yapan aynı zamanda prognozu da olumsuz yönde etkileyen inflamasyonu en aza indireyecek tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Monocyte subgroups, toll like receptor expressions and inflammation parameters in patients with chronic renal failure

Demet Kıvanç¹, Hayriye Çifçi Şentürk¹, Fatma Savran Oğuz¹, Mehmet Şükrü Sever²

¹*İstanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology*

²*İstanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Nephrology*

Objective: In this study, the role of monocyte subgroups, toll like receptor (TLR) expression and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in the pathogenesis of inflammation was investigated in patients with chronic renal failure (CRF) in the predialysis period and in end-stage renal failure (ESRF) patients who were being treated with hemodialysis (HD)/hemodiafiltration (HDF).

Materials-Methods: A total of 150 individuals including 120 patients (HD, HDF and predialysis) and 30 healthy controls were included in the study. CD14++ CD16-, CD14+ CD16++ monocyte subgroups percentages, TLR2/TLR4 expression, serum C-reactive protein (CRP) and TNF- α were investigated in the patient and control groups. Monocyte subgroup percentages and TLR expressions were investigated using the flow cytometry method and serum TNF- α levels were investigated using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method in the patient and control groups.

Results: In the dialysis patients, the percentages of both classical (p: 0.0001) and proinflammatory (p:0.078) monocytes were found to be higher compared to the predialysis CRF patients. The TNF- α level was found to be significantly higher in the dialysis and predialysis patients compared to the healthy controls (p:0.013), (p:0.022) and also in the dialysis patients compared to the predialysis CRF patients (p:0.004). The percentages of TLR2 expressed in classical monocytes was significantly higher in dialysis patients than in the predialysis CRF group (p:0.001).

Conclusion: In patients with CRF, increased monocyte subgroups and TLR2 expression and high serum TNF- α levels have been shown to be associated with inflammation. In addition, inflammation that occurs during the process of CRF becomes more prominent with the contribution of factors exposed during the dialysis process, accordingly, there is a change in the balance of monocyte subgroup ratio in the immune response. Prospective studies involving more patients are needed to develop treatment strategies to minimize inflammation that contributes to morbidity and mortality and also adversely affects prognosis in patients with CRF.

Yüksek Lisans tez çalışmasıdır ve BAP tarafından desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 038 SÖZLÜ BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

HLA-A,B,DR,DQ Alleleri, TGF-β1 Gen Polimorfizmi ile GVHH ve Nüks İlişkisi

Rüştü Oğuz¹, Hayriye Sentürk Çiftçi², Müge Gökçe³, Yeliz Öğret², Serap Karaman⁴, Fatma Savran Oğuz², Filiz Aydın¹, Zeynep Karakaş⁴

¹T.C. Demiroğlu Bilim Üniversitesi, Gayrettepe Florence Nightingale Hastanesi, Doku Tiplendirme ve İmmünoloji Laboratuvarı, İstanbul-Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye

³İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Gaziosmanpaşa Hastanesi, Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji Ünitesi, İstanbul-Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Hematoloji ve Onkoloji Bölümü, İstanbul-Türkiye

Amaç: Akut Lenfoblastik lösemi (ALL) çocuklarda en sık görülen kanserdir. Çalışmamızda ALL tanılı yüksek riskli hematopoietik kök hücre nakli adayı pediatrik hastalarda HLA-A, B, DR, DQ alelleri, TGF-β1 gen varyasyonlarını ve ayrıca nakil sonrası ile graft versus host (GVHH) arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Yeni Yüzyıl Tıp Fakültesi Gaziosmanpaşa Hastanesi pediatrik hematoloji ve İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Ünitesinde takipli yüksek riskli 86 ALL hastası ve 100 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontrollerde moleküler HLA-A,B,C,DR,DQ alelleri Yeni Nesil Dizileme teknolojisi (NGS) Illumina Miseq Dizileme sistemi ile TGF-β +869 (C/T codon 10) polimorfizmi ise PZR-RFLP yöntemi ile saptanmıştır.

Bulgular: HLA-DRB1*04, DRB1*07 alelleri hastalarda (%4.3, %16.9) kontrol grubundan (%18.0, %9.5) yüksek bulundu (p<0.0001, p=0.035). HLA-DQB1*02 alelleri kontrollerde (%21.0) hastalardan (%16.2) daha yüksek saptandı (p=0.042). HLA-A*03 alelleri hastalarda (%11.8) kontrol grubuna göre (%7.3) daha yüksek bulundu (p<0.019). TGF-β1 genotipleri hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlılık göstermedi (p>0.05). Transplante olmuş 21 hastanın 8'inde (%38.1) GVHH ve 8'inde de (%38.1) nüks ortaya çıkmıştır. Hastaların TGF-β1 varyasyonları ile GVHH arasında ilişki gösterilemezken, TGF-β1 yüksek ekspresyon genotipi (TT) nüks olan hastalarda (%12.5) nüks olmayan hastalara göre (%69.2) düşük bulunmuştur (p=0.023). HLA-DRB1*15'i pozitif olan hastalarda, HLA-DRB1*15'i negatif hastalar ile karşılaştırıldığında nüks sıklığının (%66.7 ve %26.7) daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p=0.088). HLA-DRB1*15'i negatif hasta grubunda TGF-β1 CT genotipi nüks olan hastalarda nüks olmayan hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (p=0.037). HLA-DRB1*04'ü pozitif olan hastalarda, HLA-DRB1*04'ü negatif hastalara göre GVHH sıklığının (%0.0 ve %53.3, p=0.023) daha düşük olduğu gösterilmiştir.

Sonuç: Bulgularımız, TGF-β1 sitokin gen varyasyonlarının nüks ve GVHH'de rol olabileceği bunun yanı sıra TGF-β1 CT genotipi ile HLA-DRB1*15 allel kalıtımının nüks gelişiminde rolü olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmaların daha geniş gruplarda çalışılmasının, çocukluk çağı lösemisine karşı duyarlılık yaratan genetik belirteçlerin ortaya çıkarılması ile GVHH'nın ve nüksün immunopatogenezinin daha iyi anlaşılmasında yardımcı olacağını umuyoruz.

HLA-A, B, DR, DQ Alleles, TGF-β1 Gene Polymorphism and GVHD and Recurrence

Rüştü Oğuz¹, Hayriye Sentürk Çiftçi², Müge Gökçe³, Yeliz Öğret², Serap Karaman⁴, Fatma Savran Oğuz², Filiz Aydın¹, Zeynep Karakaş⁴

¹T.C. Demiroğlu Bilim University, Gayrettepe Florence Nightingale Hospital, Tissue Typing and Immunogenetic Laboratory, Istanbul-Turkey

²Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul-Turkey

³Istanbul Yeni Yüzyıl University, Gaziosmanpaşa Hospital, Department of Pediatric Hematology, Istanbul-Turkey

⁴Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Division of Hematology and Oncology, Department of Pediatrics, Istanbul-Turkey

Objective: The present study aimed to investigate the relationship between HLA-A,B,C-DR-DQ alleles TGF-β1 gene variants in hematopoietic stem cell transplantation candidate pediatric patients with ALL and in patients with graft versus host disease (GVHD) after transplantation.

Materials-Methods: 86 high-risk patients followed up at Pediatric hematology of Gaziosmanpaşa Hospital, Yeni Yüzyıl Medical Faculty and Pediatric Hematology-Oncology Unit of Istanbul Faculty of Medicine and 100 healthy controls were included in the study. In patients and control groups, molecular HLA-A,B,C,DR,DQ alleles were detected by Illumina Miseq Sequencing technology (NGS) and on the other hand, TGF-β+869 (C/Tcodon10) polymorphism were detected by PZR-RFLP method.

Results: When HLA results were evaluated; HLA-DRB1*04, DRB1*07 alleles were higher in patients (4.3%, 16.9%) than the control group (18.0%, 9.5%) (p<0.0001, p=0.035). HLA-DQB1*02 alleles were higher in the controls (21.0%) than in the patients (16.2%) (p=0.042). HLA-A*03 alleles were higher in patients (11.8%) than in the control group (7.3.0%) (p<0.019). TGF-β1 genotypes were not statistically significant between the patient and control groups (p>0.05). Of the 21 transplanted patients, 8 (38.1%) patients had GVHD and 8 (38.1%) patients had recurrence. While TGF-β1 variations were not correlated with GVHD, TGF-β1 high



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 038 SÖZLÜ BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

expression genotype (TT) was lower in patients with recurrence (12.5%) than patients without recurrence (69.2%) ($p=0.023$). It was found that the frequency of recurrence was higher in HLA-DRB1*15 positive patients compared to HLA-DRB1*15 negative patients (66.7% and 26.7%) ($p=0.088$). In the HLA-DRB1*15 negative patient group, the TGF- β 1 CT genotype was found to be higher in patients with recurrence than patients without recurrence ($p=0.037$).

Conclusion: Our findings suggest that TGF- β 1 cytokine gene variations may play a role in recurrence and GVHD as well as TGF- β 1 CT and HLA-DRB1*15 allele inheritance. We hope that the study of these studies in larger groups will help to better understand the immunopathogenesis of GVHD and recurrence.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 039 SÖZLÜ BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

HG3 hücre serisinde Dihidroartemisinin'in programlı hücre ölümü üzerine etkisi

Sanem Gökçen¹, Handan Kayhan¹, Atiye Seda Yar Sağlam², Münici Yağcı¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erişkin Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Dihidroartemisinin (DHA), sıtma tedavisi için kullanılan bir ilaçtır. DHA'nın birçok kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, DHA'nın kronik lenfositik lösemi (KLL) hücreleri üzerine anti-kanser etkileri henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, DHA'nın HG3 insan KLL hücre serisinde programlı hücre ölümü üzerine etkisini belirlemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: DHA, hücrelere 24, 48 ve 72 saat boyunca uygulandı. Hücre canlılık oranı, XTT yöntemiyle belirlendi. Hücrelere DHA'nın IC50 konsantrasyonunun uygulanmasından sonra apoptoz etkilerini belirlemek için hücreler, Annexin V-FITC ve PI ile boyanarak akım sitometri ile analizleri yapıldı. Apoptozun moleküler mekanizmalarını ortaya çıkarmak için kantitatif real-time PCR ve akım sitometrik yöntemler kullanılarak Bcl-2, Bax ve Kaspaz-3 mRNA ve protein ifade düzeyleri analiz edildi.

Bulgular: XTT yöntemiyle belirlenen hücre canlılık oranının doza ve zamana bağlı olarak azaldığı görüldü. DHA uygulanması, HG3 hücrelerinde apoptotik cevaba yol açtı. HG3 hücrelerinde DHA'nın uygulanmasından sonra Bcl-2'nin ifadenmesinde azalma olurken, Bax ve Kaspaz-3'ün ifadenmesinde artış olduğu bulundu. DHA'nın uygulanmasından sonra HG3 hücrelerinde görülen apoptotik cevapta Bcl-2 protein ailesi üyelerinin rol oynadığı ve intrinsik apoptotik yolağın aktif olduğu belirlendi.

Sonuç: Sonuç olarak DHA, kronik lenfositik lösemi için kansere karşı potansiyel bir ilaç olabilir ve bu yüzden, gelecekte yapılacak in vivo ve in vitro çalışmalarla DHA'nın moleküler etkilerinin tam olarak belirlenmesi KLL'nin tedavisi için yeni moleküler hedeflerin tanımlanmasına olanak sağlayacaktır.

The effect of Dihydroartemisinin on programmed cell death in HG3 cell line

Sanem Gökçen¹, Handan Kayhan¹, Atiye Seda Yar Sağlam², Münici Yağcı¹

¹Faculty of Medicine, Department of Hematology, Gazi University, Ankara, Turkey.

²Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Gazi University, Ankara, Turkey.

Objective: Dihydroartemisinin (DHA) is a drug used to treat malaria. DHA was shown to induce apoptosis in many types of cancer cells. However, anti-cancer effects of DHA on chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells have not been known yet. In this study, we aimed to determine the effect of DHA on programmed cell death in human CLL cell line HG3.

Materials-Methods: The cells were treated by DHA during 24, 48 and 72 hours. The cell viability was determined by XTT method. Following treatment of IC50 concentration of DHA to the cells, the cells were analyzed by flow cytometry to determine the effects on apoptosis staining with AnnexinV-FITC and PI. mRNA and protein expression levels of Bcl-2, Bax and Caspase-3 were analyzed to find out the molecular mechanisms of apoptosis by using quantitative real-time PCR and flow cytometric methods.

Results: The cell viability determined by XTT method was decreased in a time and dose dependent manner. Treatment with DHA resulted in an apoptotic response in HG3 cells. It was found that Bcl-2 expression was decreased, Bax and Caspase-3 expression was increased in HG3 cells after DHA treatment. It was determined that members of Bcl-2 protein family were act on and intrinsic pathway of apoptosis was active in the apoptotic response of HG3 cells after DHA treatment.

Conclusion: Consequently, DHA might be a potential anti-cancer therapeutic for CLL and therefore, determination of the exact molecular effects of DHA with future in vivo and in vitro studies would allow us to identify new molecular targets for the treatment of the CLL.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 040 SÖZLÜ BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

RAW264.7, EG7 ve Huh7 hücre hattı türevli eksozomların immunomodülatör etkileri

Seda Sabah Özcan¹, Havva Özgen Kılıgöz², İhsan Gürsel²

¹Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yozgat

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, THORLAB-Therapötik Oligonukleotit Araştırma Laboratuvarı, Ankara

Amaç: Çalışmamızda, farklı eksozom türlerinin immun düzenleyici rollerini belirlemeyi ve eksozomların immunoterapide kullanımını aydınlatmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Eksozomlar, RAW 264.7 (fare makrofaj-benzeri), EG7 (fare T hücre lenfoma) ve Huh7 (insan hepatoselüler karsinoma) hücre hattı supernatantlarından ultracentrifüj yöntemi ile izole edilmiştir. İzole edilen eksozomların boyut dağılımları qnano analizleri ile belirlenmiştir. Sonrasında, eksozom karakterizasyonları western blotlama ve hücre yüzey belirteçleri boncuk tabanlı konjugasyon ile akım sitometrisi yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Eksozomların karakterizasyonu sonrasında, fare splenositleri eksozomlar ve tek başlarına ve kombinasyon şeklinde TLR ligandları (poli(I:C)-TLR3 ligand, R848-TLR7/8 ligand, CpG ODN -TLR9 ligand) ile stimule edilmiştir. Ardından eksozom ve lipozomlar potansiyel aşı taşıyıcı sistem olarak kullanılmıştır. Bu sistemi test etmek için de Huh7 hücre hattı türevli eksozomlara ve nötral yüklü lipozomlara dehidrasyon-rehidrasyon tekniği ile TLR 3: poli(I:C), TLR 9: K-tip CpG ODN ligandları yüklenmiştir. Ligand yüklü Huh7 hücre hattı türevli eksozomların hepatoselüler karsinoma ksenogreftinde antijene özgü immun yanıtı artırma potansiyelini test etmek istedik.

Bulgular: Hücre hattı türevli eksozomların karakterizasyonu western blotlama tekniği ile eksozomal proteinlerin (TSG101 ve ALIX) varlığını doğruladı. CD9 ve CD81 gibi evrensel eksozomal yüzey belirteçleri boncuk bazlı konjugasyon ile akım sitometri analizleri ile belirlendi. Terapötik aşının tümör oluşturulan hayvanlara enjeksiyonunun, anti-tümör aktiviteyi artırdığını ve HCC ksenogreftlerinin sağ kalım süresini uzattığını gösterdik. **Sonuç:** Özetle, çalışmamız klinikte eksozomların immunoterapötik kullanımı ile ilgili verilere katkıda bulunmuştur.

Immunomodulatory Effects of Raw264.7, EG7 and Huh7 Cell Line Derived Exosomes

Seda Sabah Özcan¹, Havva Özgen Kılıgöz², İhsan Gürsel²

¹Medical Biology Department, School of Medicine, Bozok University, Yozgat, Turkey

²Bilkent University, Department of Molecular Biology and Genetics, THORLAB-Therapeutic Oligonucleotide Research Laboratory, Ankara, Turkey

Objective: The aim of this study is identify the immunomodulatory roles of different exosome species and elucidate use of exosomes in immunotherapy.

Materials-Methods: Cell line supernatants were collected from RAW 264.7 (murine macrophage-like), EG7 (murine T cell lymphoma), Huh7 (human hepatocellular carcinoma) and exosomes were isolated by using ultracentrifugation method. Isolated exosomes were investigated via qnano analyses to determine the size distribution. We then characterized these exosomes by western blot and bead-based conjugation following the flow cytometric analysis for surface markers. After characterisation of exosomes, murine splenocytes were stimulated with either alone or in combination with poly (I:C)-TLR3 ligand, R848-TLR7/8 ligand, and CpG ODN-TLR9 ligand and exosomes. Then, exosome and liposomes were utilized as potential vaccine carrier systems. To test this, we externally loaded dual Toll-like receptor (TLR) ligands; TLR 3: poly(I:C), and TLR 9: K-type CpG ODN within Huh7 derived exosomes and neutral charged liposomes via dehydration-rehydration technique. We wanted to test ligand-loaded Huh7 exosomes' potential to boost antigen-specific immune response in hepatocellular carcinoma (HCC) xenograft.

Results: Characterization of cell line derived exosomes by western blot analysis confirmed the presence of exosomal proteins (TSG101 and ALIX). The universal characteristics of exosomes were assessed by bead-based conjugation following the flow cytometric analysis for surface markers such as CD9 and CD81. We demonstrated that injection of therapeutic vaccine to tumor burden animals enhanced anti-tumor activity and prolonged survival of HCC xenografts.

Conclusion: In summary, this study contributes to the data on the immunotherapeutic utility of exosomes in the clinic.

This work is partially supported by Bozok University 6602c-TF/17-63, and IG received Grant support from the ministry of Development (Grant#:UMRAM ASI).



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



SÖZLÜ BİLDİRİ DİĞER



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 015 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Fruktoz ile oluşturulan insülin direnci sıçan modelinde ghrelinin rolü: İmmünohistokimyasal ve biyokimyasal çalışma

Alişa Bahar Beydoğan¹, Zeynep Mine Coşkun², Sema Bolkent¹

¹*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

²*Demiroğlu Bilim Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Çalışmalar ghrelin hormonunun enerji metabolizması üzerinde pleiotropik bir aktiviteye sahip olduğunu ve glukoz homeostazında rol oynayabileceğini bildirmektedir. Çalışmamızda, ghrelin tedavisinin fruktoz ile indüklenen insülin dirençli sıçanların pankreaslarında adacık hormonları ve serum lipidleri üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Sprague-Dawley türü erkek (iki aylık) sıçanlar dört gruba ayrıldı. A ve C grupları yalnız çeşme suyu içerken, B ve D grupları 10 hafta boyunca % 10 fruktozlu çeşme suyu içtiler. Tüm hayvanlar ad libitum pellet ile beslendiler. Grup A hayvanlarına intraperitoneal (ip) olarak izotonik tuz solüsyonu verildi. C ve D gruplarındaki sıçanlara, deney periyodunun 8. haftasından başlayarak 2 hafta boyunca ghrelin (5 ug/kg/gün) ip uygulandı. Homeostatik insülin direnci değerlendirmesi (HOMA-IR) açlık glukoz (mmol / L) x açlık insülin (μU / L) / 22,5 formülüne göre hesaplandı. İnsülin, glukagon ve somatostatin peptidleri pankreasta immünohistokimya yöntemi ile incelendi. Ayrıca, sıçanların serum örneklerinde lipidler kolorimetrik tayin yöntemi ile tespit edildi.

Bulgular: HOMA-IR, B grubunda A grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi. HOMA-IR'deki bu artış, ghrelin tedavisi ile anlamlı olarak azaldı. Somatostatin immün⁺ hücre sayısı artarken, insülin dirençli sıçanlarda glukagon immün⁺ hücre sayısı azaldı. İmmünohistokimya bulgularımıza göre; ghrelin tedavisi esas adacık hormonlarını istatistiksel olarak değiştirmede. Artmış serum trigliserit (TG), çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (VLDL) seviyeleri ve azalmış serum düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (LDL), yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL) seviyeleri B grubunda ghrelin tedavisi ile düzeltilen.

Sonuç: Bulgularımıza göre ghrelin, fruktoz ile oluşturulan insülin direncinde HOMA-IR ve lipid düzenlenmesinin kontrolünde rol oynayabilir.

The role of ghrelin in fructose-induced insulin resistance rats: An immunohistochemical and biochemical study

Alişa Bahar Beydoğan¹, Zeynep Mine Coşkun², Sema Bolkent¹

¹*Department of Medical Biology, Faculty of Cerrahpaşa Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey*

²*Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Demiroğlu Bilim University, Istanbul, Turkey*

Objective: The studies reported that ghrelin has a pleiotropic activity on energy metabolism and can play a role in glucose homeostasis. We aimed to evaluate the effect of ghrelin on islet hormones and serum lipids in fructose-induced insulin resistance rats.

Materials-Methods: Sprague-Dawley male (two months old) rats were divided into four groups. A and C groups received free tap water. B and D groups were treated with 10 % fructose in their drinking water during 10 weeks. All animals fed pellet ad libitum. Group A received isotonic saline intraperitoneally (ip). Rats in groups C and D administered ghrelin (5 μg/kg/day) ip for two weeks starting from the 8th week. Homeostatic model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) was calculated according to the formula: fasting glucose (mmol/L) x fasting insulin (μU/L)/22.5. Insulin, glucagon, and somatostatin peptides were demonstrated by immunohistochemistry in the pancreas. Also, the lipids were detected in the serum by colorimetric determination assay.

Results: HOMA-IR showed a significant increase in B group compared to A group. This increase in HOMA-IR was significantly reduced with ghrelin treatment. The immune⁺ cell number of somatostatin slightly increased but the immune⁺ cell number of glucagon decreased in insulin resistance rats. Ghrelin administration did not show an effect on main islet hormones as statistically. The increased serum triglyceride (TG), very-low-density lipoprotein-cholesterol (VLDL) levels and the decreased serum low-density lipoprotein-cholesterol (LDL), high-density lipoprotein-cholesterol (HDL) in B group were regulated by ghrelin treatment.

Conclusion: These findings indicate that ghrelin may control of regulation HOMA-IR and serum lipids in fructose-induced insulin resistance.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 016 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Psoriasis hastalarında immüno-vasküler polimorfizmlerin araştırılması

Buket Er Urgancı, İbrahim Açıkbaş

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli

Psoriasis kronik, inflamatuvar deri hastalığıdır. Hastalığın etiolojisi tam olarak bilinmemekle beraber değişik ırklarda farklı sıklıklarda gözlenmesi ve ailesel psoriasis olgularının bulunması, psoriasisde genetik faktörlerin araştırılmasına neden olmaktadır. Psoriasis genetik ve çevresel faktörlerle etkileşen poligenik ve çok faktörlü bir hastalıktır. Genetik faktörlerin klinik belirtilere, başlangıç yaşına, tipine ve şiddetine katkısı olduğu düşünülmektedir. Genetik faktörler (polimorfizm/mutasyon) immün sistemin ve keratinositlerin normal fizyolojik işleyişindeki eşik değerleri patolojik veya yatkınlık sınırına getirebilir. Biz projemiz ile farklı ve güncel bir pencereden, vasküler ve immünolojik açıdan psoriasis araştırma ve aydınlatmayı amaçladık. Çalışmamızda özellikle derideki vasküler değişimi kontrol eden başlıca faktörleri, VEGF, HIF-1 α , ve bunları psoriasis patogenezinin bağlayabilecek immünolojik, hipoksik ve serotonerjik faktörleri, TNF- α , IL-10, 5HT2A, araştırdık. 150 hasta ve 150 kontrolden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu sonrasında, 5 farklı gene ait 9 polimorfizm “*VEGF* (rs2010963, rs833061, rs1570360), *HIF-1 α* (rs11549465), *TNF- α* (rs361525, rs1799964, rs1800629) and *IL-10* (rs1800896), *5HT2A* (rs6311)” analiz edildi. Olguların demografik, klinik ve genotip parametreleri ile polimorfizmler arasında ilişkiler ki-kare ile test edildi. Allel frekansı ve haplotip analizi için SHEsis web tabanlı programı kullanıldı.

rs1800629 Tip 1 psoriasis ile ilişkili bulunurken, rs833061 Tip 2 psoriasis ile ilişkili bulundu. Yapılan haplotip analizi ile de rs1799964 (*TNF- α*), rs2010963 (*VEGF*), rs833061 (*VEGF*) ve rs6311 (*5HT2A*) polimorfizmlerinin bir arada bulunması hastalığa koruyucu faktör olabileceğini düşündürdü. Sonuçlarımız çalışılan vaskülo-immünolojik varyasyonlarının vasküler bileşeninin psoriasisde daha etkili olduğunu göstermektedir.

*Bu çalışma TÜBİTAK-SBAG tarafından 2014S600 proje numarası ile desteklenmiştir.

Investigation of immuno-vascular polymorphisms in psoriasis patients

Buket Er Urgancı, İbrahim Açıkbaş

Pamukkale University Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Denizli

Psoriasis is a chronic, inflammatory skin disease. The etiology of the disease is unknown. However, the observation of psoriasis at different frequencies in different races and the presence of familial cases allow the investigation of genetic factors in psoriasis. Psoriasis is a polygenic and multifactorial disease which interacts with genetic and environmental factors. Genetic factors thought to have contributed to the clinical symptoms, age of onset, type, and violence. Genetic factors (polymorphism /mutation) can alter the immune system and normal physiologically functioning keratinocytes to pathological or predisposition levels.

We aimed to investigate psoriasis at a different and novel window by searching for vascular and immunological variations and intersections in psoriasis. We investigated the main vascular and hypoxic controlling factors, which are VEGF and HIF-1 α , as well immunological and serotonergic factors, such as TNF- α , IL-10, 5HT2A, which could connect each other to the pathogenesis of psoriasis. Nine SNPs in five genes “*VEGF* (rs2010963, rs833061, rs1570360), *HIF-1 α* (rs11549465), *TNF- α* (rs361525, rs1799964, rs1800629) and *IL-10* (rs1800896), *5HT2A* (rs6311)” were analyzed in 300 subjects (150 case, 150 control). The correlations between demographic, clinical and genotype parameters and polymorphisms were tested by chi-square test. SHEsis web-based program was used for allele frequency and haplotype analysis.

An association was found between rs1800629 (*TNF- α*) and Type 1 psoriasis, and also rs833061 (*VEGF*) and Type 2 psoriasis. Haplotype analysis suggests that the coexistence of the polymorphisms rs1799964 (*TNF- α*), rs2010963 (*VEGF*), rs833061 (*VEGF*) and rs6311 (*5HT2A*) may be a protective factor for psoriasis. Our results suggest that the vascular component of the studied vasculo-immunologic variation is more effective in psoriasis.

*This study was supported by TÜBİTAK-SBAG with grant number 2014S600



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 017 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Tek karbon reaksiyonlarına katılan *MTHFR* ve *PHGDH* genleri üzerindeki varyasyonların otizm spektrum bozukluğu etiyolojisindeki etkisinin araştırılması

Burak Kaan Kasap¹, Selma Tural Hesapçıoğlu³, Samiye Çilem Bilginer², Tuba Dinçer¹, Gökhan Yıldız¹, Sema Kandil², Ersan Kalay¹, Bayram Toraman¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Trabzon

³Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) sosyal etkileşimdeki yetersizlikler, sınırlı ilgi alanları ve stereotipik davranışlar görülen, genetik ve klinik olarak yüksek heterojeniteye sahip, prevalansı 1/59 olan nörogelişimsel bir grup bozukluktur. Tek gen bozuklukları, DNA kopya sayısı değişiklikleri, kromozomal anomaliler OSB ile ilişkilendirilmekle birlikte, OSB'nin genetik etiolojisi tam olarak bilinmemektedir. Oligo-genik mekanizmaların OSB etiolojisinde rol oynayabileceği önerilmektedir. Embriyonik süreçte nöronal gelişimin temel gereksinimlerinden olan fosfatidilserin ve sfingomiyelinin sentezinde öncül olarak kullanılan L-serinin *de-novo* sentezinde *PHGDH* geni kritik öneme sahiptir ve eksikliği nörogelişimsel bozukluklara neden olmaktadır. Ayrıca DNA, RNA ve protein metilasyonunda metil vericisi olan S-adenozilmetiyonin (SAM) tek karbon metabolizması reaksiyonlarından biri olan metiyonin döngüsünde 5-Metiltetrahidrofolattan (5-MTHF) üretilmektedir. 5-MTHF'nin üretiminde L-serin metil vericisi olarak rol oynarken, *MTHFR* bu süreçteki 5-MTHF üretiminden sorumlu genidir. Yürüttüğümüz bir çalışmada, OSB tanısı konulan ve 46,XY, t(1;5)(p12;p15) karyotipine sahip bir hastada yapılan tüm genom dizileme sonucunda, translokasyonun *PHGDH* genini kopardığı ve *MTHFR* C677T varyantının bu bireyde homozigot olduğu görüldü. Bu noktadan hareketle, OSB etiolojisinde *MTHFR* C677T varyantı ile *PHGDH* zararlı varyantları kombine etkisi 222 OSB hastasında hedefli yeni nesil dizileme ile araştırıldı ve belirlenen varyasyonlar in-silico yöntemlerle analiz edildi.

Sonuç olarak; indeks vakanın dışında, *MTHFR* C677T varyantını homozigot olarak taşıyan OSB'li bireylerden birinde yeni ve ikisinde oldukça nadir olmak üzere patolojik olabilecek iki farklı DNA varyasyonu tespit edildi. Bu sonuçlar, *MTHFR* ve *PHGDH* genleri üzerindeki DNA varyasyonlarının kombine etkisinin OSB'nin genetik etiolojisinde önemli olabileceğini işaret ederken, tek karbon reaksiyonlarına katılan enzimlerin eksikliğinin OSB gelişiminde rol alabileceğini göstermektedir.

Investigation of the effect of variations on the *MTHFR* and *PHGDH* genes, which are involved in one carbon reactions, on the etiology of autism spectrum disorder

Burak Kaan Kasap¹, Selma Tural Hesapçıoğlu³, Samiye Çilem Bilginer², Tuba Dinçer¹, Gökhan Yıldız¹, Sema Kandil², Ersan Kalay¹, Bayram Toraman¹

¹Department of Medical biology, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, Trabzon

²Department of Child and Adolescent Mental Health and Diseases, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, Trabzon

³Department of Child and Adolescent Mental Health and Diseases, Faculty of Medicine, Ankara Yıldırım Beyazıt University

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder with a prevalence of 1/59, genetically and clinically high heterogeneity, with inadequate social interaction, limited interests and stereotypic behavior. Single gene disorders, DNA copy number changes, chromosomal anomalies are associated with ASD, but the genetic etiology of ASD is not fully known. It is suggested that oligo-genic mechanisms may play a role in the etiology of ASD. *PHGDH* gene is critical for *de-novo* synthesis of L-serine, which is used as a precursor in the synthesis of phosphatidylserine and sphingomyelin, which is one of the basic requirements of neuronal development in embryonic process and deficiency causes neurodevelopmental disorders. Also, S-adenosylmethionine, a methyl donor in DNA, RNA and protein methylation, is produced from 5-methyltetrahydrofolate in the methionine cycle, which is one of the single carbon metabolism reactions. While L-serine methyl donor plays a role in the production of 5-MTHF, *MTHFR* is the gene responsible for 5-MTHF production in this process.

Our study in a patient with a diagnosis of ASD with 46,XY,t(1;5)(p12;p15) karyotype, the whole genome sequencing breaks the *PHGDH* gene and *MTHFR* C677T variant is homozygous in this individual. The combined effect of *MTHFR* C677T variant and *PHGDH* deleterious variants in the etiology of ASD was investigated by targeted next generation sequencing in 222 ASD patients and the identified variations were analyzed by in-silico methods.

Consequently; outside the index case from individuals with ASD who bearing *MTHFR* C677T variant homozygously two different DNA variations, one of which was new and two of which were very rare, were detected. These results indicate that the combined effect of DNA variations on *MTHFR* and *PHGDH* genes may be important in the genetic etiology of ASD, while the lack of enzymes involved in single carbon reactions may play a role in the development of ASD.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 018 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Multipl skleroz hastalarının T hücrelerinde IFN-beta-1a tedavisi ile ilgili biyobelirteçlerin belirlenmesi

Tansu Doran¹, Hazal Gezmiş¹, Deniz Yücel², Füsün Domaç Mayda³, Deniz Kırac¹

¹Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Erenköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Ataklarla seyreden multipl skleroz (RRMS), merkezi sinir sisteminde otoimmün demiyelinizasyon ile karakterize inflamatuvar ve dejeneratif bir hastalıktır. RRMS hastalarını tedavi etmek için interferon- β -1a (IFN- β -1a) kullanılmasına rağmen, bazı hastalarda ilaç beklenildiği kadar etki gösteremez. Bu çalışmanın amacı, RRMS hastalarında farklı IFN- β -1a terapötik yanıtları ile ilişkili spesifik biyobelirteçleri araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: 42 RRMS hastası çalışmaya dahil edildi. CD4 + T (yardımcı) hücreleri periferik kandan izole edildi ve akış sitometrisi ile karakterize edildi. CD4 + CD25 + düzenleyici (Treg) T hücreleri, T yardımcı hücrelerden floresan-aktifleştirilmiş hücre ayırımı (FACS) cihazı ile izole edildi ve karakterize edildi. Daha sonra hücreler kültüre edildi ve hücre canlılığını etkileyen optimum ilaç konsantrasyonlarını belirlemek için 4, 16, 24 ve 48. saatler için sitotoksikite deneyleri yapıldı. IL-6, IL-10, IL-17, IL-23 ve FOXP3 genlerinin ekspresyon seviyeleri, ilaçla tedavi edilen hücrelerde ve kontrol hücrelerinde qRT-PCR kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: CD4 + T yardımcı hücrelerinde ilaç uygulamasından 16 saat sonra FOXP3 gen ekspresyon düzeyi yaklaşık 1.7 kat azaldı, kontrol hücrelerinde ise 24 saat sonra upregüle oldu. Treg hücrelerinde ise ilaç uygulamasından sonra FOXP3 gen ekspresyon düzeyinde zamana bağlı olarak bir artış gözlemlendi. Treg hücreleri ile kontrol hücreleri karşılaştırıldığında, IL-10 gen ekspresyon seviyesinin ilaç uygulanan saatlere göre anlamlı düzeyde artışlar ya da azalışlar gösterdiği tespit edildi.

Sonuç: FOXP3 ve IL-10, T hücreleri için biyobelirteç olarak kullanılabilir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, MS'e etki eden moleküler mekanizmaların anlaşılmasına ve kişiye özgü tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir. Bu çalışma TÜBİTAK 1002 destek programı ile finanse edildi (Proje no: 216S828).

Identification of IFN-beta-1a therapy related biomarkers in T cells of multiple sclerosis patients

Tansu Doran¹, Hazal Gezmiş¹, Deniz Yücel², Füsün Domaç Mayda³, Deniz Kırac¹

¹Yeditepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey

²Acıbadem University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey

³Erenköy Mental And Neurological Disorders Education And Research Hospital, Department of Neurology, Istanbul, Turkey

Objective: Relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) is an inflammatory and degenerative disease characterized by autoimmune demyelination in the central nervous system. Although interferon- β -1a (IFN- β -1a) have been used to treat RRMS patients, it does not have expected effects in some patients. The aim of this study is to investigate specific biomarkers which are related with different IFN- β -1a therapeutic responses in RRMS patients.

Materials-Methods: Forty-two RRMS patients were recruited to the study. CD4+ T (helper) cells were isolated from peripheral blood and characterized by flow cytometry. CD4+CD25+ regulatory (Treg) T cells were isolated from T helper cells by fluorescence-activated cell sorting (FACS) and characterized. Then cells were cultured and cytotoxicity assays were performed for 4, 16, 24 and 48 hours to determine optimum drug concentrations affecting cell viability. Gene expression levels of IL-6, IL-10, IL-17, IL-23 and FOXP3 were analyzed in drug-treated cells and control cells by using qRT-PCR. Results were evaluated statistically.

Results: FOXP3 gene expression level was decreased approximately 1.7 fold after 16 hours in CD4+ T helper cells following drug administration, however, it was upregulated in controls after 24 hours. After drug administration, FOXP3 gene expression level showed an increase over the period. When the expression levels of IL-10 gene in Treg cells were compared with control group, some statistically increases or decreases in expression levels were detected according to the drug administration time.

Conclusion: FOXP3 and IL-10 may be used as biomarkers for Treg cells. The results obtained from the study may help to understand the molecular mechanisms effecting to MS and to develop a personalized treatment methods. This study was funded by TUBITAK 1002 funding programme (Project number:216S828).

Bu çalışma TÜBİTAK 1002 destek programı ile finanse edilmiştir (Proje no: 216S828).



SS – 019 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

**İskelet Kası Fibrozisinde Yeni Bir
Düzenleyici; Adipocyte Enhancer Binding
Protein 1 (AEBP1)/Aortic Carboxypeptidase-
Like Protein (ACLP)**

Duygu Sevim, Hasan Basri Kılıç, Yusuf Çetin Kocaefe

Hacettepe üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Fibrozis, tüm doku ve organlarda, kronik dejenerasyon ile hücre dışı matris (ECM) elemanlarının birikimi ile fonksiyon kaybına neden olan; geri dönüşsüz patolojik bir süreçtir. İskelet kasında yara iyileşmesi ve fibrozis sürecinde farklı hücre topluluklarını hedefleyen ve ECM elemanlarının salgılanma süreçlerini kontrol eden iki önemli sitokin, IGF1 ve TGFβ'dır. Ekibimizin iskelet kası hasarına yönelik yaptığı çalışmalarda Adipocyte Enhancer Binding Protein 1 (AEBP1) / Aortic Carboxypeptidase-like Protein (ACLP)'in fibrozis ile ilişkili olabileceği ortaya konmuştur. Bu doğrultuda işlevsel çalışmalara dayanak oluşturmak üzere, iskelet kasında AEBP1/ACLP ifadesinin incelenmesi amacıyla bir in vitro model planlanmıştır. Bu amaçla, myoblast (C2C12), pre-adiposit (3T3-L1) ve mezenkimal stromal (OP9) hücrelere çoğalma ve farklılaşma süreçlerinde, IGF1 ve TGFβ uygulaması gerçekleştirilmiştir. Hücrelerde AEBP1/ACLP mRNA ve protein ifade değişimleri qrtPCR ve kapiller immunoblotlama ile incelenmiştir. Her üç hücre hattında IGF1'in çoğalmayı hızlandırdığı TGFβ'nın ise farklılaşmayı inhibe ettiği gözlenmiştir. ECM elemanlarının salgılanmasını düzenleyen TGFβ uygulaması ile C2C12 hücrelerinde (kontrolle göre) AEBP1/ACLP ifadesi 1.5 kat (mRNA) ve 3 kat (protein) artmıştır. Benzer şekilde, 3T3-L1 hücrelerinde AEBP1/ACLP ifadesi 2.6 kat (mRNA) ve 2 kat (protein) ifade artışı saptanmıştır. OP9 hücrelerinde ise, TGFβ uygulaması ile AEBP1/ACLP gen ifadesi 3.4 kat (mRNA) ve 2.25 kat (protein) ifadesi artmaktadır. Ayrıca, iskelet kasında geliştirilen akut hasar modelinde tamir sürecinde AEBP1/ACLP ifadesinin mRNA ve protein seviyesinde 3 kata kadar artmakta olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, AEBP1/ACLP'nin iskelet kası ECM oluşum ve düzenlenmesinde görev aldığını, hasar tamirinde rol oynadığını (in vivo) göstermekte ve ifadesinin TGFβ etkisi ile kontrol edildiğini (in vitro) kanıtlamaktadır. Myojenik farklılaşma süresince ifadesinin artışı, myotüp gelişimine eşlik eden ECM oluşumu ile paralellik gösterdiğine işaret etmektedir. AEBP1/ACLP proteini yeni bir ECM düzenleyicisi adaydır. Fibrozis sürecindeki işlevsel rolünün aydınlatılması ile bu sürecin durdurulması ve engellenmesi için yeni yaklaşımların geliştirilebilmesi için önemli bir adaydır.

**A New Regulator in Skeletal Muscle Fibrosis;
Adipocyte Enhancer Binding Protein 1
(AEBP1)/Aortic Carboxypeptidase-Like
Protein (ACLP)**

Duygu Sevim, Hasan Basri Kılıç, Yusuf Çetin Kocaefe

Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology

Fibrosis is an irreversible pathological process causing loss of function and accumulation of extracellular matrix (ECM) along chronic degeneration in organs and tissues. IGF1 and TGFβ are major cytokines targeting divergent cell populations in the process of wound healing and fibrosis by controlling ECM elements in skeletal muscle. We previously identified Adipocyte Enhancer Binding Protein 1 (AEBP1)/Aortic carboxypeptidase-like Protein 1 (ACLP) to be associated with fibrosis in skeletal muscle degeneration. To provide a basis for functional studies, AEBP1/ACLP expression was investigated in an in vitro model. For this purpose, myoblasts (C2C12), pre-adipocytes (3T3-L1) and mesenchymal stromal (OP9) cells were treated with IGF1 and TGFβ along proliferation and differentiation. qrtPCR and capillary immunoblotting techniques were employed to elucidate AEBP1/ACLP mRNA and protein levels. In all three cell lines, IGF1 accelerated proliferation and TGFβ inhibited differentiation. TGFβ treatment (known to regulate production of ECM elements), upregulated AEBP1/ACLP expression 1.5 (mRNA) and 3-folds (protein) in C2C12 cells (relative to control). Similarly, AEBP1/ACLP expression was upregulated 2.6 (mRNA) and 2-folds (protein) in 3T3-L1 cells. Likewise, AEBP1/ACLP gene expression was 3.4 (mRNA) and 2.25 folds (protein) upregulated in OP9 cells. In addition, AEBP1/ACLP expression was investigated in acute injury-regeneration model of the skeletal muscle in vivo. AEBP1/ACLP expression was upregulated up to 3 folds (mRNA and protein levels) along regeneration period. These results demonstrate AEBP1/ACLP to interplay in formation, regulation or remodeling of skeletal muscle ECM. AEBP1/ACLP is likely to play a role in damage repair (in vivo) and we show that it's expression is directly controlled by TGFβ (in vitro). Upregulation of expression during myogenic differentiation indicates accompanying expression along ECM formation during myotube development. The AEBP1/ACLP protein is a new candidate to regulate ECM. Understanding the function of AEBP1/ACLP and it's role may help to develop new approaches towards prevention and amelioration of fibrosis.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 020 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Homozigot COG5 c.95 T> G mutasyonunu taşıyan ilk klinik vaka

Egzona Qipa¹, Murat Büyükdoğan², Muradiye Acar²,
Veysel Sabri Hançer³

¹Istinye Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik, İstanbul, Türkiye

²Istinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik, İstanbul, Türkiye

³Istinye Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik, İstanbul, Türkiye

Konjenital glikolizasyon defektleri (CDG) N-bağlı oligosakaritlerin anormal glikolizasyonu ile karakterize, otozomal resesif kalıtım gösteren genetik bir hastalık grubudur. 24 haftalık fetüste polihidramnios, hidrosefali, anormal yüz şekli, beyin morfolojisi anormalliği, spina bifida, vertebral kolon anormalliği, makrosefali, skolyoz, mikrogna, anormal böbrek morfolojisi, kısa fetal femur ve kısa fetal humerus uzunluğu gibi bulgular gözlemlenmesi üzerine, amniyon sıvısından fetüse ait genomik DNA izole edilip Tüm Ekzom Dizileme (WES) uygulanmıştır. Fetüsün COG5 geninde patojenik bir varyant saptanmıştır. (c.95T> G p.Met32Arg, 32. Saptanan bu Sınıf1 patojenik varyant, Sanger temelli DNA dizileme yöntemi ile konfirme edilmiştir. Bu COG5 varyantı, konjenital glikozilasyon bozukluğu ile ilişkilidir. Bu bildiri ile, yapısal doğum kusurları olan doğum öncesi olgularda WES'in tanılal önemini, eksiksiz ve dikkatli fenotiplendirmeyi, nadir veya yeni patojenik varyasyonların sınıflandırılışının önemini vurgulamak istedik. Bu bildiri, homozigot COG5 c.95 T> G mutasyonu olan literatürdeki ilk CDG klinik vakayı göstermektedir.

The first CDG patient with homozygous COG5 c.95 T>G mutation

Egzona Qipa¹, Murat Büyükdoğan², Muradiye Acar²,
Veysel Sabri Hançer³

¹Istinye University, Health Sciences Institute, Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul, Turkey

²Istinye University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, İstanbul, Turkey

³Istinye University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul, Turkey

Congenital glycosylation defects (CDG) is an autosomal recessive hereditary genetic disorder, characterized by abnormal glycosylation of N-linked oligoacids. In the 24th week of fetus findings like polyhydramnios, hydrocephaly, abnormal facial features/shape, brain morphology abnormalities, spina bifida, vertebral colon abnormality, macrocephaly, scoliosis, micrognathia, abnormal kidney morphology, short fetal femur length, and short fetal humerus length have been derived, where the DNA, belonging to the amniotic fluid of the fetus, has been isolated and analysed under Whole Exome Sequencing(WES). A pathogenic variant has been examined in the COG5 gene of fetus (c.95T> G p.Met32Arg, 32.).This determined class 1 pathogenic variant has been confirmed through Sanger-based sequencing method. This COG5 variant has been associated with congenital disorder of glycosylation. With this report, we aimed to point out the importance of diagnostic utility and limitations of WES in prenatal cases with structural birth defects, where meticulous and complete phenotyping is important in classifying rare and new or prospective pathogenic variations. This case report is the first CDG clinical case of homozygous COG5 c.95 T>G mutation in the literature.



SS – 021 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

**Mukopolisakkaridoz tip VI hastalarının
ARSB geninde yeni bir patolojik mutasyon
(c.870 C <A, p.Trp290 *)**

Egzona Qipa¹, Murat Büyükdogan², Muradiye Acar²,
Veysel Sabri Hançer³

¹Istinye Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik, İstanbul, Türkiye

²Istinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik, İstanbul, Türkiye

³Istinye Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik, İstanbul, Türkiye

Maroteaux-Lamy sendromu olarak da bilinen mukopolisakkaridoz tip VI, arilsülfataz B enziminin eksikliği ile karakterize edilen bir lizozomal depo bozukluğudur. Tipik özellikleri, kısa boy, kısa gövde, çıkıntılı karın, bükülmüş diz duruşu, kemerli sırt, bulutlu kornea, eklem sertliği-kontraktürler ve yürüme bozukluğudur. Hastalar tipik olarak Hurler benzeri dismorfik yüz özelliklerine sahiptir: mikrosefali, belirgin çıkık alın ve gözler, geniş burun, alçak burun köprüsü, kalın dudaklar, geniş aralıklı diş ve hiperplastik diş etleri. Teşhis enzim testleri ile, diğer lizozomal enzimlerin normal aktivitesiyle bağlantılı olarak, özellikle düşük arilsülfataz B aktivitesi olan enzim analizleri ile tespit edilir. Enzim ve hematopoetik kök hücre tedavisi ile, hastalığın tedavisinde bir miktar başarı elde edilebilir. MPS VI'lı hastalarda ARSB varyantlarının sıklığı aşağıdaki gibidir; % 59,5 missense, % 13,5 küçük delesyonlar, % 12 nonsense, % 5 kırılma mutasyonları ve intronik varyantlar, % 3 küçük duplikasyonlar, % 3 büyük delesyonlar ve % 1 stop kodon kaybı. Bu çalışmada, MPS VI için klinik muayene, biyokimyasal testler ve moleküler analiz ile teşhisi konan Arnavut ailede MPS VI'lı kardeşleri inceledik. Aile üyelerinin periferik kan örneklerinden izole edilen gDNA örnekleri kullanılarak ARSB geninin tüm eksonları Sanger temelli DNA dizileme yöntemi ile analiz edildi. Sonuç olarak, literatürde ve veri tabanlarında daha önce tanımlanmamış, enzim aktivitesinin kaybına yol açan c.870 G>A (p.Trp290*) nonsense patolojik varyant tespit edilmiştir.

**A novel pathological mutation (c.870 C<A,
p.Trp290*) in ARSB gene of
Mucopolysaccharidosis type VI patients**

Egzona Qipa¹, Murat Büyükdogan², Muradiye Acar²,
Veysel Sabri Hançer³

¹Istinye University, Health Sciences Institute, Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul, Turkey

²Istinye University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, İstanbul, Turkey

³Istinye University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul, Turkey

Mucopolysaccharidosis type VI, also known as Maroteaux-Lamy syndrome, is a lysosomal storage disorder, characterized by the deficiency of the arylsulfatase B enzyme. Typical features include a short stature, shortened trunk, protuberant abdomen, flexed knee stance, arched back, corneal clouding, joint stiffness and contractures, and a waddling gait. Patients typically have Hurler-like dysmorphic facial features: microcephaly, prominent forehead and eyes, broad nose, low nasal bridge, thick lips, and hyperplastic gums with widely spaced teeth. Diagnosis is confirmed upon enzyme assays, specifically low arylsulfatase B activity in conjunction with the normal activity of other lysosomal enzymes. Enzyme replacement therapy, as well as hematopoietic stem cell therapy, is finding some success in the management of the condition. Frequency of ARSB variants in patients with MPS VI are as follows; 59.5% missense, 13.5% small deletions, 12% nonsense, 5% intronic variants, 3% small duplications, 3% large deletions and 1% Stop-loss. In this report, we are presenting an Albanian family with siblings with MPS VI who were diagnosed with the clinical examination, biochemical tests, and molecular analysis for MPS VI. Hereby, a novel c.870 G>A nonsense homozygous mutation was found responsible for the loss of the enzyme activity. Using the gDNA samples isolated from the peripheral blood of the family members, all exons of the ARSB gene -have been analysed using the Sanger-based DNA sequencing method. In conclusion, a nonsense pathological variant c.870 G>A (p.Trp290*) has been determined which causes the loss of enzyme activity which has never been documented before in the literature.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 022 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Kalsiyum ve D Vitamini Metabolizmasında Görevli Transkripsiyon Faktörlerinin Kùltüre Edilen Paratiroid Dokularındaki Etkinliklerinin Paratiroid Nakil Sürecine Etkisi

Emrah Yücesan¹, Beyza Göncü²

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Kalıcı hipoparatiroidinin kùratif tedavisi paratiroid naklidir. Hücre haline getirilen ve uygun koşullarda saklanan dokular nakil için bir-üç gün arasında kùltüre edilerek alıcıya verilir. Bu aşamada fonksiyonelliğın göstergesi parathormon (PTH) düzeyidir. PTH'nin sentez yolağında iki özgöl transkripsiyon faktörü bulunmaktadır; Glial cells missing2 (GCM2) ve V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologB (MAFB). GCM2, dokunun gelişimindeki temel transkripsiyon faktörüdür, paratiroid morfogenez ve erişkin dönemdeki farklılaşmasında etkin role sahiptir. MAFB, dokunun gelişiminde, farklılaşmasında rol oynar, erişkin hayatta ekspresyonu devam eder. GCM2 ve MAFB'nin PTH üzerindeki etkileri sinerjiktir. Çalışmamızın amacı; kùltür süresince paratiroid hücrelerinin işlevselliklerinin ve nakil süreci için en verimli kùltür zamanının belirlenmesidir.

Gereç-Yöntem: Çalışmada sekiz paratiroid hiperplazi dokusundan elde edilen hücreler kullanıldı. PTH değerleri üç zaman aralığı için ELISA ile ölçüldü. GCM2 ve MAFB transkripsiyon faktörlerinin; bunlarla pozitif calcium-sensing receptor (CaSR) ile negatif düzenleyicisi olan vitamin-D receptor (VDR) gen anlatım ve protein düzeyleri değerlendirildi. İstatistiksel analizler Mann-Whitney U ve çift-yönlü ANOVA testleriyle gerçekleştirildi.

Bulgular: GCM2 ve MAFB'nin zamana bağılı gen anlatım değerleri kùltür süresinde anlamlı bulunmamıştır (iki değişken ve üç zaman aralığında $p > 0,05$) ancak VDR anlatım seviyesi kùltüre edildikçe anlamlı şekilde azalmaktadır ($p < 0,0001$). Protein miktarı açısından CaSR ve VitaminD3 Reseptör proteinleri kùltürün üçüncü gününden itibaren ters orantılı patern sergilemektedir (Birinci gün $p = 0,008$, üçüncü gün $p = 0,010$, altıncı gün $p = 0,44$). Kùltür sürecindeki değişimler dalgalı bir durum gösterse de, PTH seviyesi kùltür koşullarında sabit kalmaktadır.

Sonuç: Nakil süreci için uygulanan kùltür işlemi ve süresi sonucunda, incelenen dört parametredeki değişikliklere rağmen PTH seviyesi sabit kalmaktadır. Bugüne kadar uzun ve/veya kısa süreli paratiroid hücre kùltürü kullanılarak yapılan transplantasyonların, greft sağ kalımına göre anlamlı etkinliği literatürde henüz bildirilmemiştir. İlerleyen dönemde *in-vivo* çalışmalarla kısa dönem (üç-altı gün) hücre kùltürü yapılmasının greft

sağ kalım süresi ile ilişkisinin değerlendirilmesini hedeflenmektedir.

The Effect of Transcription Factors on Calcium and Vitamin D Metabolism in Cultured Parathyroid Tissues on Parathyroid Transplantation Process

Emrah Yücesan¹, Beyza Göncü²

¹Bezmialem Vakıf University, Institute of Life Sciences and Biotechnology, Istanbul, Turkey

²Bezmialem Vakıf University, Experimental Research Center, Istanbul, Turkey

Objective: Curative treatment of persistent hypoparathyroidism is parathyroid transplantation. Cells were isolated from tissues and stored under appropriate conditions are cultured for one-three days for transplantation and delivered to the recipient. The indicator of functionality is the parathormone (PTH) level. There are two specific transcription factors in synthesis pathway of PTH; Glial cells missing2 (GCM2) ve V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologB (MAFB). GCM2 is the main transcription factor in tissue development and has an active role in parathyroid morphogenesis and differentiation in adults. MAFB plays a role in the development, differentiation of tissue and expression continues throughout life. The effects of GCM2, MAFB on PTH are synergistic. The aim of this study is to determine the functionality of parathyroid cells during culture and the most efficient culture time for transplantation.

Materials-Methods: In the study eight parathyroid hyperplasia cells were used. PTH values were measured by ELISA for three time intervals. GCM2 and MAFB transcription factors; positive calcium-sensing receptor (CaSR) and negative regulatory vitamin-D receptor (VDR) gene expression and protein levels were evaluated. Statistical analyzes were performed using Mann-Whitney U and two-way ANOVA tests.

Results: Time-dependent gene expression values of GCM2 and MAFB were not significant in culture time ($p > 0.05$ in two variables and three time intervals), but VDR expression level decreased significantly throughout culture ($p < 0.0001$). In terms of protein content, CaSR and VitaminD3 Receptor proteins show inverse proportional patterns from the third day of culture ($p = 0.008$ on the day one, $p = 0.01$ on the day three, $p = 0.44$ on the day six). Although changes in the culture process are fluctuating, PTH level remains constant under culture conditions.

Conclusion: As a conclusion of the culture process and duration for the transplantation process, the PTH level remains stable despite changes in the four parameters which are examined. To date, significant efficacy of transplantation using long and/or short-term parathyroid cell culture over graft survival has not yet been reported in the literature. In the future, we aim to evaluate the relation between short-term (three-six days) culture and graft survey with *in-vivo* studies.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 044 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

TGFBI Geninde Genom Düzenleme Tekniği ile Oluşturulan Varyasyonların Zebra Balığı Korneasındaki Fenotipik Etkilerinin İncelenmesi

Fulya Yaylacıoğlu Tuncay¹, Gülsüm Kayman Kürekçi¹, Beril Talim², Pervin Rukiye Dinçer¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Patoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: TGFBI-ilişkili kornea distrofileri, bu gende meydana gelen yanlış anlamalı mutasyonlar sonucu oluşan protein ürününün amiloid ya da hiyalin yapıda korneada birikmesiyle ortaya çıkan kalıtsal bir hastalık grubudur. TGFBI geni zebra balığında tek kopya olarak bulunmakta olup protein dizisi insandaki ortologu ile %65 homolojiye sahiptir. Bu genin protein ürünü (TGFBIp) zebra balığı korneasında gösterilmiştir. TGFBI'da 124. amino asit olan arjinini kodlayan kodon bu hastalık grubunda en sık bildirilen mutasyon bölgelerinden biridir. 124. arjinin amino asidi zebra balığında da korunmuştur. Bu verilerden yola çıkarak zebra balığında tgfbı'de hedefteki arjinin rezidüsünü kodlayan bölgede CRISPR/Cas9 genom düzenleme aracını kullanarak in frame değişiklik yapmayı amaçladık.

Materyal-Metod: Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Zebra Balığı Araştırma Laboratuvarı'nda mevcut zebra balıkları kullanılarak, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alındıktan sonra yapılmıştır. Zebra balığı genomunda varyasyon oluşturmak için CRISPR/Cas9 genom düzenleme tekniği kullanılarak homoloji bağımlı tamir mekanizmasına için kalıp DNA ile; homolog olmayan uç birleştirme ile tamir için ise kalıp DNA olmaksızın zebra balığı embriyolarına mikroenjeksiyonlar yapılmıştır. Somatik mutasyon analizlerinde Sanger DNA dizileme, restriksiyon fragman uzunluğu analizi ya da T7 endonükleaz enzimi ile kesim analizi kullanılmıştır.

Bulgular: Tgfbı'de hedef bölgedeki değişiklik homolog olmayan uç birleştirme tamir mekanizması ile oluşturulmuş olup hedef arjinin amino asidini ortadan kaldıracak şekilde p. Ser115_Arg117delinsLeu (c. 347_353delinsT) varyasyonu elde edilmiştir. Bu varyasyon hastalığı zebra balığında taklit etme potansiyeline sahiptir. Varyasyonu heterozigot olarak taşıyan 3 aylık zebra balıklarının gözlerinde ışık mikroskobu ile yapılan histolojik incelemelerde hematoxilen eosin, masson trikrom ve kongo kırmızısı ile boyamada hiyalin veya amiloid birikim saptanmamıştır.

Sonuç: Bu çalışma, tgfbı geninde kornea distrofilerine neden olan 124. arjinin amino asidini zebra balığı genomunda ortadan kaldırarak in frame indel oluşturan ilk çalışmadır. Bu varyasyonu taşıyan zebra balıklarının daha ileri yaşlarda incelenmesi sonucu fenotipik değişiklikler tespit edilerek TGFBI-ilişkili kornea

distrofilerinin modellenmesi ve hastalığın patogenezinin ortaya konulması mümkün olabilecektir.

Evaluation of Phenotypic Effects of Genome Editing Mediated TGFBI Variation on Zebrafish Cornea

Fulya Yaylacıoğlu Tuncay¹, Gülsüm Kayman Kürekçi¹, Beril Talim², Pervin Rukiye Dinçer¹

¹Hacettepe University Medical Faculty, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey

²Hacettepe University Medical Faculty, Department of Pediatric Pathology, Ankara, Turkey

Objective: TGFBI-related corneal dystrophies are hereditary disorders characterized by accumulation of the abnormal protein product of TGFBI gene in the hyaline or amyloid form due to missense mutations of this gene. This gene exists in the zebrafish genome without duplication and its protein product has 65% homology to its human orthologue. Protein product of tgfbı (TGFBIp) was shown in the cornea of zebrafish. Mutations of this gene that effect the arginine residue on the 124th position of TGFBIp were reported as one of the hot spots for this group of corneal dystrophies. This arginine residue was also conserved in zebrafish. According to these data; in this study we aimed to make an in frame change in the region that codes the 124th amino acid residue of tgfbı in the zebrafish genome by using CRISPR/Cas9.

Materials-Methods: This study was conducted in Hacettepe University Zebrafish Research Laboratory after approval from Local Ethical Board of university. CRISPR/Cas9 method was used for variations in the zebrafish genome. For homology dependent repair donor DNA was added to the microinjection solution. For somatic mutation analysis, Sanger DNA sequencing, restriction fragment length polymorphism or T7 endonuclease assay were used.

Results: We achieved indel variation at the target sequence that resulted in p. Ser115_Arg117delinsLeu (c. 347_353delinsT) by nonhomology mediated repair. This variation could mimic the disease process in the zebrafish cornea. The 3 months old zebrafish eyes were examined histopathologically under the light microscope but no amyloid or hyaline deposits could be detected with hematoxylen-eosin, masson-trichrome and congo red staining.

Conclusion: Thus, this study is the first in literature that succeeded to make an in frame variation effecting the hot spot arginine residue in tgfbı protein and further studies could detect phenotypical changes in older zebrafish that could mimic the TGFBI-related corneal dystrophies and help to reveal the disease pathogenesis.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 045 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Doğrusal ve Dairesel ANRIL Formlarının Periferik Kan ve Yağ Dokularında Ekspresyonu: Koroner Arter Hastalığı ile ilişkili olan 9p21.3 Varyantlarının Olası Etkisi

Gökçe Akan¹, Evarist Nyawawa², Bashir Nyangasa²,
Mehmet Kerem Turkcan³, Erasto Mbugi¹, Mohammed
Janabi², Fatmahan Atalar⁴

¹Muhimbili Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,
MUHAS Genetik Laboratuvarı, Dar es Salaam, Tanzanya

²Jakaya Kikwete Kalp Enstitüsü, Dar es Salaam, Tanzanya

³Kolombiya Üniversitesi, Elektrik Mühendisliği Bilim Dalı, New
York, Amerika

⁴İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Tıbbi Genetik
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: ANRIL, kromozom 9p21.3 lokusunun koroner
arter hastalığı (KAH) ile ilişkili lokasyonunda bulunan
önemli bir uzun kodlanmayan RNA'dır. Ancak ANRIL'in
KAH patogeneziindeki rolü hala bilinmemektedir.
Çalışmamızda, Tanzanyalı KAH hastalarında ANRIL ve
ANRIL transkript varyantlarının ekspresyonlarının KAH
yatkınlığı ile ilişkisini ve 9p21.3 lokus varyasyonlarının
ANRIL ve ANRIL transkript varyantlarının
ekspresyonlarını periferik kan, epikardiyal adipöz doku
(EAD), mediastinal adipöz doku (MAD) ve subkutan
adipöz doku (SAD) üzerindeki etkisinin araştırılması
amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: ANRIL'in ve transkript varyantlarının
(circANRIL, NR003529, EU741058 ve DQ485454)
ekspresyonları, 25 koroner arter bypass greftleme
operasyonu olan hastada (KAH grubu) ve kalp kapağı
cerrahi operasyonu olan 25 hastada (kontrol grubu)
kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile
ölçülmüştür. Genotipleme çalışmaları kantitatif gerçek
zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak
yapılmıştır.

Bulgular: KAH hastalarında kontrollere kıyasla ANRIL
ekspresyonu periferik kanda anlamlı olarak yüksek iken,
circANRIL ekspresyonu anlamlı şekilde düşük
bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.05$). Artmış circANRIL
ekspresyonu azalmış KAH şiddeti ile ilişkili
bulunmuştur. rs10757278 ve rs10811656
polimorfizmleri, ANRIL, EU741058, NR003529 ve
circANRIL ekspresyonları sadece periferik kanda değil,
aynı zamanda EAD ve MAD da anlamlı olarak ilişkiliydi.
GGGG risk haplotipi, ANRIL ve transkript varyantlarının
ekspresyon düzeyleri için önemli bir düzenleyici olarak
gösterilmiştir. ROC analizi; circANRIL ekspresyonun
KAH için potansiyel bir biyomarker olabileceğini
doğrulamıştır.

Sonuç: Çalışmamız, KAH hastalarının adipöz
dokularında ANRIL ve transkript varyantlarının
ekspresyonlarını ve ANRIL ekspresyonunun KAH ile
ilişkisini gösteren ilk çalışmadır. circANRIL, ANRIL ile
sinerjik bir etkiye sahiptir ve KAH için koruyucu bir rol
oynamaktadır.

Expression of linear and circular forms of ANRIL in human peripheral blood and adipose tissues: Possible influence of the 9p21.3 variants linked to coronary artery disease

Gökçe Akan¹, Evarist Nyawawa², Bashir Nyangasa²,
Mehmet Kerem Turkcan³, Erasto Mbugi¹, Mohammed
Janabi², Fatmahan Atalar⁴

¹Muhimbili University of Health and Allied Sciences, School of
Medicine, Biochemistry Department, MUHAS Genetics
Laboratory, Dar es Salaam, Tanzania

²Jakaya Kikwete Cardiac Institute, Dar es Salaam, Tanzania

³Columbia University, Department of Electrical Engineering,
New York, USA

⁴Istanbul University, Child Health Institute, Department of
Medical Genetics, Istanbul, Turkey

Objective: ANRIL is an important long noncoding RNA
(lncRNA) located in 9p21.3 hot spot locus associated
with CAD. But the role of ANRIL in CAD pathogenesis
is still unknown. The present study aims to investigate the
association of ANRIL and ANRIL splice variants
expressions with CAD susceptibility, and the impact of
9p21.3 locus hotspot variations on ANRIL and its splices
variants expressions in peripheral blood, epicardial
adipose tissue (EAT), mediastinal adipose tissue (MAT)
and subcutaneous adipose tissue (SAT) in Tanzanian
CAD patients.

Materials-Methods: Expressions of ANRIL, and its
variants; circANRIL, NR003529, EU741058 and
DQ485454 were measured by quantitative real-time
polymerase chain reaction (QRT-PCR) in 25 patients
undergoing coronary artery bypass grafting due to CAD
(CAD group) and 25 non-CAD patients (controls)
undergoing heart valve surgery. The genotyping assays
were performed by the use of QRT-PCR.

Results: ANRIL expression was up-regulated while
circANRIL expression was down-regulated in the
peripheral blood of CAD patients compared to controls
($p < 0.05$, respectively). Increased circANRIL expression
was associated with less severity of CAD. rs10757278
and rs10811656 were significantly associated with
expressions of ANRIL, EU741058, NR003529 and
circANRIL not only in peripheral blood but also in EAT
and MAT. GGGG risk haplotype was also demonstrated
as an important regulator for ANRIL and its splice
variants expression levels. ROC analysis confirmed that
circANRIL could act as a potential CAD biomarker.

Conclusion: We report the first data presenting the
expressions of ANRIL and its splice variants in adipose
tissues of CAD patients and the association of ANRIL
expression with CAD. circANRIL has a synergetic effect
with ANRIL and plays a protective role in CAD.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 046 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta İnhibitörleri Üzerine Hesaplamalı Farmakofor Modelleme Çalışmaları

Gozde Yalcin

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü, Rize, Türkiye

Amaç: Bilgisayar destekli ilaç tasarımı (CADD) ilaç geliştirme prosesini hızlandırmakla birlikte maliyeti de düşürmektedir. Farmakofor modelleme hedef reseptörün yapısına dair bilginin eksik olduğu durumlarda CADD için büyük bir role sahiptir. Bu prosedürün sonucu olarak medisinal kimyadaki organik sentez prosesi öncesinde pek çok hastalık için yeni önder moleküller geliştirilebilmektedir.

Glikojen Sentez Kinaz 3 Beta (GSK-3Beta) bir serin-treonin kinazdır ve Parkinson ve Alzheimer Hastalığı (AD) ile ilişkilendirilmektedir. Alzheimer hastalığına yol açan amiloid beta plakları amiloid prekürsör proteinin ardışık olarak kesimi ile oluşmaktadır. Güncel çalışmalar GSK-3Beta inhibisyonunun APP kesiminde düşüşe neden olduğunu göstermektedir. Bu durum GSK-3Beta'yı ilaç geliştirme çalışmaları için önemli bir hedef haline getirmektedir.

GSK-3Beta enziminin insana ait 3D yapısında özellikle de bağlanma bölgesindeki bazı rezidülerde eksiklikler mevcuttur. Bu yetersiz yapısal veri farmakofor modelleme çalışmalarını zorunlu kılmaktadır. Bu çalışmada yeni önder GSK-3Beta inhibitörlerinin tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

Gereç-Yöntem: Literatürde GSK-3Beta inhibisyonu hakkında pek çok prelinik ve klinik çalışmalar tespit edilmiştir. Seçilmiş çeşitli GSK-3Beta inhibitörleri üzerinde moleküler doking prosedürü uygulanmıştır. Bu moleküllerin seçilen konformasyonları PharmaGist Web sunucusu vasıtasıyla farmakofor modelleme çalışmasına alınmıştır. Bu yöntem ligandların esnek bir biçimde üst üste çakıştırılması prosesi temeline dayanmaktadır.

Bulgular: PharmaGist'den alınan en iyi farmakofor modeline göre yeni önder bileşiğin 2 hidrofobik rezidü içermesinin yanı sıra, bir hidrojen bağı donörü ve bir hidrojen bağı akseptörü içermesi öngörülmektedir. Belirlenen farmakofor modeline göre DRUGBANK veritabanı taranarak yeni bir moleküller taranacaktır. Son olarak yeni önder bileşik ile GSK-3Beta arasındaki ilişki moleküler doking yöntemiyle AutoDock Vina moleküler modelleme aracı kullanılarak incelenecektir.

Sonuç: 3D yapıdaki bileşik ile benzer bir bağlanma profili gösteren bileşikler yeni önder bileşik olarak belirlenmiş, organik sentez basamağına alınması öngörülmüştür.

Computational Pharmacophore Mapping Studies on Glycogen Synthase Kinase 3 Beta Inhibitors

Gozde Yalcin

Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of Engineering,
Department of Bioengineering, Rize, Turkey

Objective: Computer-aided drug design (CADD) provides to speed up and rationalize the drug design process and reduces the costs. Pharmacophore mapping has a major role for CADD in the absence of structural data of the target receptor. On the result of this procedure new lead molecules could be generated for several diseases before synthesis process of medicinal chemistry. Glycogen Synthase Kinase 3 Beta (GSK-3Beta) is a serine-threonine kinase and it has been associated with Parkinson disease and Alzheimer diseases (AD). Sequential cleavages of amyloid precursor protein (APP) generates amyloid beta plaques which causes AD. Recent studies show that inhibition of GSK-3Beta causes to decrease in the cleavage of APP. This makes GSK-3Beta an important target for drug design studies.

3D structure of human GSK-3Beta contains deficiencies especially like the lack of some residues that are in binding pocket of enzyme. This insufficient structural data obligates scientist to do pharmacophore mapping methods. In our study development of new lead molecules was aimed as GSK-3Beta inhibitors.

Materials-Methods: Many preclinical and clinical studies about GSK-3Beta inhibition were found by literature search. Molecular docking procedure was implemented to several selected GSK-3Beta inhibitors. Chosen conformations of these molecules were subjected to pharmacophore mapping procedure by PharmaGist Web Server. The method works based on the flexibility of the input ligands explicitly within an alignment process.

Results: Best pharmacophore model that proposed by PharmaGist includes two hydrophobic residues, one Hydrogen bond acceptor and one Hydrogen bond donor. Determined pharmacophore models were used to screen DRUGBANK database. Predicted new lead molecules were generated in the result of this study. At the end of study, interaction between new lead molecules and GSK-3Beta was tested with molecular docking method by AutoDock Vina Molecular Modelling tool.

Conclusion: Compounds which gives similar binding profile with ligand in 3D structure will be chosen as best new lead molecules.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 048 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Nadir Hastalıklara karşı Serebral Palsi; Türkiye Spastik Çocuklar Vakfı Deneyimi

Nihan Hande Akçakaya¹, Nihan Hande Akçakaya²

¹Adli Tıp Kurum Başkanlığı

²Türkiye Spastik Çocuklar Vakfı

Amaç: Serebral palsy (SP) kapsayıcı tanımı ile 18 yaş altı engelliliğin ilk sırasındadır. Rehabilitasyon odaklı yaklaşımda fiziksel engellilik yaratmış farklı etiyolojideki birçok hastalık SP olarak değerlendirilmektedir. Hedef, rehabilitasyona başvuran ve tıbbi danışmanlık hizmeti almış olguların etiyolojik sınıflamasını yapmaktır. Bu çalışma rehabilitasyon çatısı altındaki 18 yaş altı başlıca nörolojik tutulumlu ya da tutulum riski taşıyan olguların tıbbi dökümünü yansıtmaları açısından önem taşımaktadır.

Gereç-Yöntem: TSCV'de 2016-2018 yılları arasında değerlendirilen toplam 594 bireye ait şikayet, ayrıntılı anamnez, hastanın genel tıbbi ve nörolojik değerlendirmesi, olgulara ait tetkik ve tıbbi evrakların incelenmesi ile gerçekleştirildi. Retrospektif bu çalışmada olguların kronolojik yaşı, erken doğum öyküsü, varsa sebebi, çoğul gebelik olup olmaması, doğum sonrası küvöz ihtiyaçları olup olmaması, varsa kaç gün olduğu, ebeveynleri arasında akrabalık durumu ve tüm tıbbi belgeleri ayrıntılı olarak incelenerek retrospektif olarak not edildi.

Bulgular: Olguların 193'ü çeşitli travma ve komplikasyonlara sekonder gelişen serebral palsy, 73'ü nörolojik gelişim problemi yaşama riski nedeniyle "riskli bebek", 95'i kesin genetik tanılı ve 172'si ise genetik ön tanılı olduğu görüldü. Bunlar dışında otizm ve diğer davranışsal yakınmalar ile özel eğitim ihtiyacı olan bireyler vardı. Seride nadir nörojenetik hastalıklardan oluşan 220 olgunun en büyük grubu oluşturduğu, ardından 193 olgu ile SP'nin geldiği gösterilmiştir.

Sonuç: Engellilik grubunda yapılmış bu çalışma, nadir hastalıkların en az SP kadar sık görüldüğünü ortaya koymaktadır. Çoğunlukla genetik kökenli olan nadir hastalıklar, SP'nin güncel ayırıcı tanıları arasında giderek giderek önem kazanmaktadır. Büyük çoğunluğu SP olarak adlandırılmakta olan nadir nörojenetik hastalıkların tanılanmasını sağlamak, ailelerin genetik danışmanlık alması ve maddi yük yaratan gereksiz tetkik ve yönlendirmelerin önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Rare diseases versus Cerebral Palsy; Experience of Spastic Childrens Foundation of Turkey

Nihan Hande Akçakaya¹, Nihan Hande Akçakaya²

¹Council of Forensic Medicine

²Spastic Childrens' Foundation of Turkey

Objective: Cerebral palsy (CP), with its comprehensive definition, is at the top of the disability below 18 years of age. In rehabilitation-oriented approach, many diseases with different etiologies that cause physical disability are evaluated as CP. The aim is to make the etiologic classification of patients who referred for rehabilitation and medical counseling. This study is important in terms of reflecting the medical data of patients under the age of 18 in rehabilitation center with major neurological involvement or neuro-developmental risk.

Materials-Methods: A total of 594 patients who were evaluated in TSCV between 2016-2018 years were screened. All patients were documented retrospectively with detailed medical history, examination of the medical documents, and general medical and neurological evaluation of the patients'. In this retrospective study, chronological age of the cases, history of preterm birth, presence of multiple pregnancies, need for pediatric intensive care unit and the number of days if any, the consanguinity status between the parents and all medical documents in detail.

Results: The study revealed that; 193 cases had cerebral palsy secondary to various trauma and complications, 73 cases were risky babies due to risk of neurological development, 95 cases had definite genetic diagnosis, and 172 cases had possible genetic pre-diagnosis. Rest of the cases were individuals with autism and other behavioral complaints. In the series, 220 cases of rare neurogenetic diseases constitute the largest group, followed by 193 cases with CP.

Conclusion: This study in disabled children group reveals that rare diseases are as common as CP. Rare diseases, mostly of genetic origin, are becoming increasingly important among the current differential diagnoses of CP. The diagnosis of rare neurogenetic diseases, the majority of which is called SP, is of great importance for families to receive genetic counseling and to prevent unnecessary examinations and referrals that cause financial burden.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 078 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Prader-Willi Sendromu bulgularını taşıyan normal karyotipe sahip olgularda metilasyon ve uniparental dizomi profillerinin araştırılması

Pınar Bahşi¹, Sezin Yakut Uzuner¹, Banu Nur², Özden Altıok Clark³, Ercan Mihçit²

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Antalya

Amaç: Prader-Willi Sendromu (PWS) klinik olarak fenotipik abnormaliteler, bilişsel yetersizlik ve nörometabolik değişimlerle karakterize multisistemik bir hastalıktır. Genetik açıdan ise 15. kromozomun q11-q13 bölgesinde lokalize olan genlerin defekti ile ilişkilidir. Sağlıklı bireylerde bu bölgenin paternal alelleri aktifken, maternal alelleri damgalanmıştır. Paternal genlerin ekspresyon mekanizmasının bozulması ise PWS' ye sebep olmaktadır. PWS' nin klinik bulgularına farklı kromozomlardaki değişimler de sebep olabilmektedir. Dolayısıyla bu durum hastalığın doğru tanısının konulmasını etkilemekte, klinisyenlerin hangi moleküler testi ne zaman isteyeceğini belirlemede sorun oluşturmaktadır. Bu çalışmada PWS' nin klinik bulgularını taşıyan olgularda MS-MLPA analizi yaparak genotip-fenotip korelasyonunun sağlanması; böylece PWS ile Prader-Willi Benzeri Sendrom' un moleküler açıdan ayrımı, doğru tanı, doğru genetik danışmanlık ve uygun tedavi sağlanabilmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Klinik olarak PWS' nin fenotipik özelliklerini taşıyan, kromozomal olarak normal karyotipe sahip, FISH yöntemi ile 15q11.2-q13 bölgesinde delesyon taşımadığı belirlenmiş 12 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. MS-MLPA yöntemi ile 15q11.2-q13 bölgesinin metilasyon analizi gerçekleştirilmiş; anormal metilasyon paterni gösteren olgulara UPD değerlendirmesi mikrosatellit analizi ile yapılmıştır. Elde edilen veriler mevcut veri tabanları ve literatürle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: 12 olgunun 1 tanesinde anormal metilasyon paterni gözlenmiş ve mekanizmanın aydınlatılabilmesi için mikrosatellit analizi yapılmıştır. Bu olguda anormal metilasyon paterninin UPD' ye bağlı olduğu tespit edilmiştir. 11 olguda ise 15q11.2-q13 bölgesinde herhangi bir değişim saptanmamıştır.

Sonuç: 11 olguda herhangi bir değişimin gözlenmemesi bu olguların Prader-Willi Benzeri Sendrom içerisinde yer aldığını göstermiştir. Hastalığın etiyolojisini anlamak, doğru tanı ve genetik danışmanlık verebilmek için daha geniş hasta grubuna sahip çalışmalar yapılması gerekmektedir.

The investigation of methylation and uniparental disomy of cases having clinical findings of Prader-Willi Syndrome but with normal karyotype

Pınar Bahşi¹, Sezin Yakut Uzuner¹, Banu Nur², Özden Altıok Clark³, Ercan Mihçit²

¹Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya

²Department of Child Health and Diseases, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya

³Medical Genetics, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya

Objective: Prader-Willi Syndrome (PWS) is a multisystemic disease characterized by clinical phenotypic abnormalities, cognitive impairment, and neurometabolic changes. Genetically, it is associated with the defect of genes localized in the q11-q13 region of chromosome 15. While paternal chromosome of this region is active in healthy individuals, maternal chromosome is imprinted. Disruption of the expression mechanism of the paternal genes causes PWS. Chromosomal changes in different chromosomes can also cause clinical signs of PWS. Therefore, this situation affects the correct diagnosis of the disease and it is a problem in determining when and which molecular test will be wanted by the clinicians. In this study, we aimed to provide the genotype-phenotype correlation by performing MS-MLPA in cases having clinical signs of PWS; to differentiate between PWS and Prader-Willi-Like Syndrome on a molecular basis; to provide accurate diagnosis, proper genetic counseling and appropriate treatment.

Materials-Methods: 12 cases having clinical signs of PWS, normal karyotype and no deletion on 15q11-q13 region confirmed by FISH, were included in the study. Methylation analysis of 15q11.2-q13 was performed by MS-MLPA method; microsatellite analysis for evaluating UPD was performed in cases having abnormal methylation pattern. The results were evaluated by comparing current literature and databases.

Results: Abnormal methylation pattern was observed in 1 of 12 cases and microsatellite analysis was performed to understand the mechanism of abnormal methylation. In this case, abnormal methylation pattern was determined to be related to UPD. In 11 cases, no genetic changes were observed on 15q11.2-q13 region

Conclusion: No chromosomal and genetic changes in 11 cases showed that these cases were included in Prader-Willi-Like Syndrome. To understand the etiology of the disease, to provide accurate diagnosis and genetic counseling studies with a larger group of patients are required.

Bu proje Akdeniz Üniversitesi bilimsel araştırma projeleri (bap) birimi tarafından TYL-2017-2815 kodu ile desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 079 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Miyelodisplastik sendromda miR145/146a'nın TGF- β sinyal yolağındaki rolü ve 5q delesyonu ile ilişkisinin incelenmesi

Seda Süsgün¹, Onur Baykara², Dilhan Kuru², Başak Aslaneli Çakmak², Şeniz Öngören Aydın³, Yelda Tarkan Argüden², Ayhan Deviren²

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

³İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Tıp Fakültesi, Hematoloji BD

Miyelodisplastik sendrom (MDS), verimsiz hematopoez nedeniyle kemik iliğinde displastik hücreler ve periferik kanda sitopeni ile karakterize heterojen klonal hematopoetik kök hücre malinitiesidir. MDS tanılı hastalarda %30-50 oranında klonal kromozomal anomaliler gözlenmektedir. Başta 5q, 7q, 11q, 13q, 20q ile 12p ve 17p delesyonları olmak üzere, monozomi 5 ve 7, Y kaybı, trizomi 8 gibi kromozomal anomalilere sık rastlanmaktadır. Ayrıca MDS ile ilişkilendirilen çok sayıda gen mutasyonu ve ifade düzeyi değişen miRNA tanımlanmıştır. Buna rağmen MDS'de etkisiz hematopoeze neden olan asıl mekanizmalar yeterince bilinmemektedir. Çalışmamıza dahil edilen hastalarda, sitogenetik ve moleküler bulgular arasında ilişki kurmak amacıyla MDS'de sık gözlenen 5q delesyonuna ve bu bölgeden kodlanan miR-146a/miR-145 ifadesine odaklanıldı. Hematopoezde baskılayıcı bir sitokin olan TGF- β sinyalizasyonunun alt yolağında görevli *SMAD2* ile bahsedilen miRNA'lar arasındaki ilişki incelendi. MDS ön tanısı almış 24 hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline ve 20 sağlıklı kontrol periferik kan örneğine konvansiyonel sitogenetik, FISH ve RT-PCR yöntemleri uygulandı. GTL bantlama yöntemiyle yapılan sitogenetik incelemelerde olguların %43,4'ünde çeşitli klonal sitogenetik anomaliler saptanırken, 5q33-34 delesyonuna rastlanmadı. FISH yöntemi sonucunda ise bir olguda *cut-off* değerinin üzerinde 5q33-34 delesyonu, üç olguda ise monozomi 5 tespit edildi. Yapılan miRNA ifade analizi çalışması sonrasında tüm olgularda miR-146a ifadesinin azaldığı ($p=0,0003$), bununla birlikte olguların %41,6'sında *SMAD2* ifadesinin arttığı belirlendi. miR-145 ve *SMAD2* ifadelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış veya azalış gözlenmezken aralarındaki ilişkinin anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0,04$). Olgu sayısının artırılması MDS'de hastalığın moleküler etiyopatogenezinin aydınlatılmasına yardımcı olabilecektir.

Investigating the role of miR145/146a in TGF- β signal pathway in myelodysplastic syndrome and its relationship with 5q deletion

Seda Süsgün¹, Onur Baykara², Dilhan Kuru², Başak Aslaneli Çakmak², Şeniz Öngören Aydın³, Yelda Tarkan Argüden², Ayhan Deviren²

¹Bezmialem Vakıf University, Medical Faculty, Department of Medical Biology

²Istanbul University Cerrahpaşa, Medical Faculty, Department of Medical Biology

³Istanbul University Cerrahpaşa, Medical Faculty, Department of Hematology

Myelodysplastic syndrome(MDS) is a clonal heterogeneous hematopoietic stem cells malignancy with dysplastic cells in bone marrow and cytopenia in peripheral blood due to inefficient hematopoiesis. Clonal chromosomal abnormalities are seen in 30-50% of patients. Deletions of 5q, 7q, 11q, 13q, 20q, 12p, 17p are common and other abnormalities like -5 and -7, loss of Y, and +8 are seen frequently. Besides, many gene mutations and miRNAs with altered expression have been associated with MDS. Nevertheless, exact mechanisms leading to ineffective hematopoiesis remain elusive. To establish an association between cytogenetic and molecular findings, we focused on 5q deletion, which is one of most frequently deleted regions in MDS, and expression levels of miR-146a/miR-145, encoded from this region. Association between miRNAs and *SMAD2*, a target of above mentioned miRNAs and a functional gene in signaling pathway of TGF- β , was investigated. 24 bone marrow aspiration from patients pre-diagnosed MDS and peripheral blood of 20 healthy subjects were investigated using cytogenetics, FISH and RT-PCR. Cytogenetic examination with GTL banding revealed clonal cytogenetic abnormalities in 43.4% of cases, but no 5q33-34 deletion was observed. With FISH, 5q33-34 deletion above cut-off value in one, and -5 in 3 cases, were detected. miRNA expression analysis showed that expression of miR-146a was decreased in all patients ($p = 0.0003$) while *SMAD2* expression was increased in 41.6%. While there was no statistically significant change in miR-145 and *SMAD2* expression levels, a significant relationship between these two was found ($p = 0.04$). Increasing number of patients may help to enlighten molecular pathogenesis of MDS.



SS – 080 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Tip 2 Diyabetli Sıçanlarda Fitozom Curcuminoid Ve Probiyotik Kullanımının Antidiyabetik Ve Antilipidemik Etkisinin Değerlendirilmesi

Tuğba Cici, Esen Karaca

Acıbadem Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Amaç: Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) hastalığı hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır ve prevalansı dünya genelinde artış göstermeye devam etmektedir. Kan glukoz ve lipid düzeyinin kontrol altında tutulmasında fitozom curcuminoid ve probiyotik mikroorganizmaların etkinliği bilinmektedir. Bu çalışmada streptozotosin (STZ) ve nikotinamid (NA) ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda 6 hafta fitozom curcuminoid ve probiyotik mikroorganizma kullanımının antidiyabetik ve antihyperlipidemik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Rastgele seçilen sıçanlar ile dört grup oluşturulmuştur. Sıçanlara tek doz intraperitoneal 120 mg/kg NA enjeksiyonundan sonra yine tek doz intraperitoneal 65 mg/kg STZ enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 72 saat sonra sıçanlardan alınan kan örneği ölçülerek açlık kan şekeri 126 mg/dl ve üzeri olan sıçanlar tip 2 diyabet kabul edilmiştir.

Grup I: Kontrol Grubu (n=5); Bu gruba bir STZ-NA enjeksiyonu dışında bir uygulama yapılmamıştır.

Grup II: Probiyotik Grubu (n=7); Oral gavaj şeklinde probiyotik verilmiştir.

Grup III: Curcumin Grubu (n=7); Oral gavaj şeklinde fitozom curcuminoid verilmiştir.

Grup IV: Probiyotik+Curcumin Grubu (n=7); Oral gavaj şeklinde probiyotik ve fitozom curcuminoid verilmiştir.

Bulgular: Sıçanların deney başındaki ile deney sonundaki glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında probiyotik grupta istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p=0,043). Araştırma sonunda kan glukoz, trigliserit, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterol ve total kolesterol açısından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0.05).

Sonuç: Sonuç olarak T2DM hastalığında probiyotik mikroorganizmaların ve fitozom curcuminoidin birlikte kullanımının antihyperlipidemik ve antidiyabetik etkisi görülmemiştir. Sıçanların deney başı ve deney sonunda kan glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında ise probiyotik grupta antihyperglisemik etki görülmüştür.

Antihyperlipidemic And Antihyperglycemic Effect Of Probiotics And Curcumin In Type 2 Diabetic Rats

Tuğba Cici, Esen Karaca

Acıbadem University, Institute of Medical Sciences, İstanbul

Objective: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a chronic metabolic disease characterized by hyperglycemia and its prevalence continues to increase worldwide. The efficacy of phytosomal curcuminoid and probiotic microorganisms in controlling blood glucose and lipid levels is well-known. The aim of this study was to determine the antidiabetic and antihyperlipidemic effects of 6 week phytosomal curcuminoid and probiotic microorganism use in streptozotocin (STZ) and nicotinamide (NA) induced diabetic rats.

Materials-Methods: The rats were randomly divided into 4 groups were injected with a single dose of intraperitoneal 120 mg/kg NA followed by a single dose of intraperitoneal 65 mg/kg STZ. 72 hours after injection, blood samples were taken from rats and rats with fasting blood glucose of 126 mg/dl were accepted as type 2 diabetes.

Group I: Control Group (n=5); This group did not receive any treatment.

Group II: Probiotic Group (n=7); Probiotic was given in the form of oral gavage.

Group III: Curcumin Group (n=7); Phytosomal curcuminoid was given in the form of oral gavage.

Group IV: Probiotic+Curcumin Group (n=7); Probiotic and phytosomal curcuminoid were given as oral gavage.

Results: A statistically significant difference was found in the probiotic group (p = 0.043). The levels of blood glucose, triglyceride, high density lipoprotein (HDL) cholesterol, low density lipoprotein (LDL) cholesterol and total cholesterol did not differ significantly in exposed subjects when compared with the control group (p> 0.05).

Conclusion: In conclusion, based on the results of the present study it can be suggested that probiotic microorganisms and phytosome curcuminoid has no antidiabetic and antihyperlipidemic properties in T2DM. Antihyperglycemic effect was observed in the probiotic group.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



SS – 081 SÖZLÜ BİLDİRİ / DİĞER

Farede kalbe özgü duyu nöronlarının kültür ve dokuda morfolojik ve moleküler karakterizasyonu

Zeynep Begüm Durdu¹, Tuba Akgül Çağlar², Mehmet Uğurcan Turhan³, Esra Çağavi⁴

¹Tıbbi Biyoloji Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Sinirbilim Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Tıp Fakültesi; Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁴Tıbbi Biyoloji ABD, Uluslararası Tıp Fakültesi; Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Duyusal veriler kalpten beyne, arka kök gangliyon (AKG) ve nodoz gangliyon (NG) vasıtası ile iletilir. Son yıllarda, akciğer, bağırsak, mide gibi organlara özgü duyu nöronları tanımlanmış olmasına rağmen kalbe özgü duyu nöronları henüz moleküler ve elektrofizyolojik düzeyde detaylı incelenmemiştir. Literatürde kalp ile ilişkili duyu sinir gövdelerinin NG ve AKG'de bulunduğunu gösteren araştırmalar, histolojik incelemeler ile sınırlı kalmıştır. Bu çalışma kapsamında amaçlarımız; AKG ve NG'de bulunan kalbe özgü duyu nöronlarının in vivo işaretlemesi, ayrıştırılması, kültürde morfolojik ve moleküler karakterizasyonu ile kalbe özgü duyu nöronlarının doku kesitlerinde konum (mapping) ve oranının belirlenmesidir. Bu amaçla farelerin kalbine retrograd bir boya olan Di-8-ANEPPQ verilerek kalbe özgü duyu nöronları işaretlenerek, hücre kültüründe incelemek amacıyla FACS yoluyla saflaştırıldı. Yaptığımız nörona-özümlü Tuj1 immün boyaması ve görüntü analizlerinde, kalbe özgü duyu nöronlarının, saflaştırılmamış heterojen nöron popülasyonuna göre gövde alanı ve akson kalınlığının anlamlı olarak küçük olduğunu tespit ettik. Bu veri kalbe özgü nöronların farklı bir subpopülasyona ait olabileceğini ve küçük çaplı ağrı nöronlarını barındırabileceğini göstermektedir. NG ve omuriliğin C8, T1, T3 ve T5 seviyesinde konumlanan AKG'lerde doku boyutunda 3-boyutlu haritalama sonucu Di-8-ANEPPQ ile işaretli kalbe-özümlü duyu nöronlarının dokuda heterojen bir dağılım gösterdiği ve toplam nöron popülasyonunun NG'de yaklaşık %5'ini, AKG'lerde ise %1-3'ünü oluşturduğu belirlendi. Sonuç olarak bu çalışma ile literatürde ilk kez kalbe özgü NG ve AKG duyu nöronlarının dokuda lokalizasyonu ve oranı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bulgular, kalbe özgü duyu nöronlarının tanımlanması ve kalp-duyu sinir sistemi etkileşiminin sistemler seviyesinde anlaşılmasına katkı sağlamıştır.

Morphological and molecular characterization of mouse heart-sensory neurons in culture and tissue

Zeynep Begüm Durdu¹, Tuba Akgül Çağlar², Mehmet Uğurcan Turhan³, Esra Çağavi⁴

¹Medical Biology Program, Institute of Health Science; Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

²Neuroscience Program, Institute of Health Science; Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

³School of Medicine; Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Medical Biology, International School of Medicine; Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

Sensory information from the heart is transferred to the brain via dorsal root ganglion (DRG) and nodose ganglion (NG). Although, internal organs, such as lung, intestine, and stomach, have specific sensory neuron populations, heart-specific sensory neurons (HSSN) have not been described in a molecular level, yet. In the literature, sensory neurons innervating heart have been examined on the sensory nerve nodes, but remained limited to histological analysis. Within the scope of this study, DRG and NG originated HSSN were labelled in vivo, sorted, cultured and morphologically and molecularly characterized. Moreover, we have mapped HSSNs in tissue sections (mapping) and evaluated the ration and distribution in the DRG and NG tissues. In this study, Di-8-ANEPPQ retrograde dye was injected into the hearts of mice and labelled DRG and NG neurons were dissociated. The HSSN were isolated from ganglion tissue using FACS to be examined in cell culture. Morphologically, we have shown that both neuron cell body area and the axon diameter of the HSSN were significantly smaller than those of heterogeneous neurons that are not purified in FACS. This novel data indicates that the HSSN may belong to different subpopulation that may contain pain sensory neurons. Moreover, the neurons labelled with Di-8-ANEPPQ demonstrated a heterogeneous distribution in the tissue after the 3-dimensional tissue mapping of DRGs located at C8, T1, T3 and T5 levels of the spinal cord and NG. It was also found that HSSN constituted 5% of the total NG neurons and %1-3 of total DRG neurons. Collectively, the localization and ratio of the heart-specific DRG and NG neurons in tissue were investigated for the first time in the literature. The findings of this study provide criteria for identification of the heart-specific sensory neurons in tissue and expand our understanding of the interaction between heart and sensory nervous system.

Bu araştırma TÜBİTAK 1001 Öncelikli Alanlar Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı tarafından 115S381 nolu ve BAP 2018/19 proje kapsamında desteklenmiştir.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİLER



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ

KANSER



PS – 007 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Meme kanserli hücrelerin yüzeylerinde lipoprotein reseptör ekspresyonları

Sümeyye Aydın, Özlem Bingöl Özakpınar, Sevcin Kutlu, Merve Duracık, Turgut Şekerler, Derya Özşavcı

Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç:Kanserli hücreler lipoprotein reseptörleri sayesinde kolesterol alışverişi yaparak membranlarına kolesterol katmaktadır (Besler ve ark.,2012). Bu çalışma da üçlü negatif meme kanseri hücre kültürü hatlarında lipoprotein reseptörlerinin ekspresyonlarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu araştırma Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında gerçekleştirilmiştir. Meme kanserli hücre hattı olarak MDA MB 231(triple üçlü negatif) hücre hattı kullanılmıştır. Kültüre edilen kanserli hücre hattı LDL'ile (100µg/ml) muamele edilerek flasklara aktarıldı. 4 saat inkübasyon sonrası PBS ile yıkama yapılarak kazındı. Flasklardan süpernaton atılma işlemi sonrası lipoprotein (LDL) reseptörü ile muamele edilen hücrelerde antikor öncesi ve sonrası lipoprotein reseptör ekspresyonu florometrede ölçülerek karşılaştırıldı.

Bulgular: LDL öncesi antikor ekspresyonu 3730 +/- 312,6 iken, LDL sonrası bu değer 5148 +/- 90,24 olarak ölçüldü (p<0,05).

Sonuç: Bulgularımıza göre; meme kanserli hücreler lipoprotein reseptör ekspresyonlarını diğer kanserli hücreler gibi artırarak membranlarını sağlamlaştırmaktadır ve kendilerine koruma mekanizması gerçekleştirmektedir. (Zheng ve ark.,2013)

Lipoprotein receptor expressions on surfaces of breast cancer cells

Sümeyye Aydın, Özlem Bingöl Özakpınar, Sevcin Kutlu, Merve Duracık, Turgut Şekerler, Derya Özşavcı

Marmara University Faculty of Pharmacy Department of Biochemistry, Istanbul

Objective:Cancer cells add cholesterol to their membranes by exchanging cholesterol through lipoprotein receptors (Besler et al., 2012). The aim of this study was to determine the expression of lipoprotein receptors in triple negative breast cancer cell culture lines.

Materials-Methods: This research was carried out in Marmara University Faculty of Pharmacy Department of Biochemistry. The MDA MB 231 (triple triple negative) cell line was used as the breast cancer cell line. The cultured cancer cell line was treated with LDL (100µg / ml) and transferred to flasks. After 4 hours of incubation, it was scraped by washing with PBS. Lipoprotein receptor expression was measured on the fluorometer before and after antibody in the cells treated with lipoprotein (LDL) receptor after supernatant removal from the flasks.

Results: While antibody expression before LDL was 3730 +/- 312.6, this value was measured as 5148 +/- 90.24 after LDL (p <0.05).

Conclusion: According to our findings; Breast cancer cells increase lipoprotein receptor expressions like other cancer cells to strengthen their membranes and provide protection mechanisms for themselves. (Zheng et al., 2013)



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 011 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Myelodisplastik Sendrom olgularında TET2, ASXL1, IDH1/ IDH2 Gen Polimorfizmlerinin Sıklığının Klinik İle Korelasyonun Araştırılması

İlknur Karatekin¹, Gülay Alp², Duygu Aygüneş¹, Güray Saydam³, Burçin Kaymaz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Bitlis Tatvan Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları, Bitlis

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Miyelodisplastik sendrom (MDS) periferik sitopeni, karakteristik morfolojik bulgular ve kemik iliğinde sitogenetik anormallikler dahil çeşitli bozuklukların olduğu heterojen bir olgudur. IDH1, IDH2, TET2 ve ASXL1 gibi bazı genlerin MDS patogenezinde rolü bildirilmiştir.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda MDS’de seçilen genlerdeki polimorfizminin allel sıklığının belirlenmesini amaçladık. Bu amaç doğrultusunda 100 olgunun örnekleri toplandı, örneklerden DNA izolasyonu yapıldı. Polimorfik bölgeler qPCR ile çoğaltıldı. Veriler istatistiksel analizlerle değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda 79 olguda karyotip bakılmış 21(%26) olguda karyotip anomali saptanmıştı. FISH MDS paneli istenen 77 olgunun 16(%20,7) tanesinde anormallik saptandı. Karyotip ve FISH bakılan olgular değerlendirildiğinde klasik karyotip anomali olan 18 olgunun 9’unda FISH de anormallik saptanmış, 9 (%50) tanesinde ise FISH normal saptandı. Normal karyotipli 51 olgunun FISH incelemesinde 6 (%11,8) tanesinde anormallik saptandı. Polimorfizm sonuçlarda nadir görülen minör allel mutant kabul edildi. Bakılan TET2 rs763480 72 olguda (%72) A/A yabanıl tip, 24 olgu (%24) A/T heterozigot 4 (%4) olgu T/T homozigot mutant saptandı ASXL1 rs2208131 45 olguda (%45) A/A yabanıl tip, 41 olgu (%41) A/G heterozigot 14 (%14) olgu G/G homozigot mutant saptandı. IDH1 rs11554137 92 olguda (%92) C/C yabanıl tip, 8 olgu (%8) C/T heterozigot saptandı, hiçbirinde homozigot mutant IDH1 polimorfizmi saptanmadı. IDH2 rs121913503 78 olguda (%78) G/G yabanıl tip, 8 olgu (%8) G/A heterozigot, 14 (%14) olgu A/A homozigot mutant, IDH2 rs267606870 bakılan 100 olgunun hepsi C/C yabanıl tip saptandı. SNP sonuçlarıyla, karyotip ve sitogenetik anormallik saptanıp saptanmaması açısından değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı. Sadece TET2 homozigot ve heterozigot polimorfik grupta yabanıl tipe göre daha az karyotip anormallik izlendi (p=0,059). TET2 heterozigot polimorfik grup azasitidin (AZA) tedavi yanıtı yabanıl tipe göre istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (p=0,042). **Sonuç:** Sonuç olarak MDS hastalarında sık görülen TET2 mutasyonunun saptanmasının iyi prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. İleri çalışmalarla bu genlerin prognostik önemi belirlendikten sonra skorlama sistemlerinde, tedavi seçiminde ve tedavi yanıtını öngörülmesinde kullanılabilir.

Identifying TET2, ASXL1, IDH1 / IDH2 Gene Polymorphisms’ Frequencies in Myelodysplastic Syndrome Cases with Clinical Correlation

İlknur Karatekin¹, Gülay Alp², Duygu Aygüneş¹, Güray Saydam³, Burçin Kaymaz¹

¹Ege University Faculty Of Medicine, Department Of Medical Biology, Izmir

²Bitlis Tatvan State Hospital, Internal Medicine, Bitlis

³Ege University Faculty Of Medicine, Department Of Internal Diseases, Izmir

Objective: Myelodysplastic syndrome(MDS) is a heterogeneous disease with various disorders including cytopenia, morphological, cytogenetic abnormalities in bonemarrow. IDH1/IDH2, TET2 and ASXL1 have been reported in MDS pathogenesis. We aimed to determine the allele frequencies of these genes in MDS.

Materials-Methods: Hundred MDS cases were collected and their DNAs were isolated. Polymorphic regions were amplified by qPCR; data were evaluated by statistical analysis.

Results: Also karyotype analyses were performed for 79 patients and abnormality was detected in 21(26%) of them. Of 77 patients who required FISH MDS panel, were found abnormalities in 16(20.7%). When karyotype and FISH analyzes were evaluated, 9 of 18 patients with classic karyotype anomaly had FISH anomaly and 9 (50%) patients had normal FISH. FISH examinations of 51 patients with normal karyotype showed abnormalities in 6 (11.8%) cases.

For polymorphisms, the rare minor allele was accepted as mutant. TET2-rs763480 polymorphism was found in 72(72%) A/A wild-type, 24(24%) A/T heterozygous and 4 (4%) T/T homozygous mutant. ASXL1-rs2208131 polymorphism was found in patients as 45 (45%) A/A wild-type, 41 (41%) A/G heterozygous, and 14(14%) G/G homozygous mutants. IDH1-rs11554137 polymorphism, C/C wild-type in 92 patients (92%), C/T heterozygote in 8(8%) patients, but no homozygous mutant IDH1 polymorphism was detected. IDH2-rs121913503 polymorphism was found in patients as 78 (78%) G/G wild type, 8(8%) G/A heterozygous, 14(14%) A/A homozygous mutants; IDH2-rs267606870 polymorphism was detected 100% of the C/C wild-type for 100 patients. Thus, only rs121913503 polymorphism was evaluated for IDH2 in subsequent analyzes.

Treatment response of TET2 heterozygous polymorphic group azacitidine(AZA) was found significantly higher than wild-type, statistically(p=0.042).

Conclusion: In conclusion, there are studies showing that detecting tet2 mutation in mds patients is associated with good prognosis. After determining the prognostic significance of these genes with advanced studies, it can be used in scoring systems, treatment selection and prediction of treatment response.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 012 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Mide kanseri hücre modellerinde ilk kez kemoterapötik - moleküler hedefe yönelik ajan ikili kombinasyonları için sinerjistik sıralı uygulama şemalarının tanımlanması

Özen Leylek^{1,3}, Gülnihal Özcan^{2,3}

¹Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

³Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM), İstanbul, Türkiye

Amaç: Mide kanseri, kanserden ölümlerin üçüncü en sık nedenidir. Günümüz kemoterapi protokolleri, sinerjistik antikanser ilaç kombinasyonlarının hastalara aynı kemoterapi seanslarında uygulanmasına dayanmaktadır. Ancak bu strateji ile anlamlı bir sağkalım artışı sağlanamamaktadır. Bu nedenle, mide kanserinde kombinasyon kemoterapisinin başarısını arttıracak yeni stratejilere acilen ihtiyaç duyulmaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar antikanser ilaçların uygun sıra ve zaman aralığı ile uygulanmasının sinerjizmin derecesini arttırabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada, ilaçların uygulanma sırası ve ilaç uygulamaları arasındaki bekleme zamanının kemoterapötik-moleküler hedefe yönelik ajan ikili kombinasyonlarının etkinliği üzerine etkisinin araştırılması ve mide kanserinde maksimum sinerjistik etkiye sahip sıralı uygulama şemalarının belirlenmesi hedeflenmektedir.

Gereç-Yöntem: Floropirimidin, antrasiklin, platin türevi, taksan ve topoizomera inhibitörü gruplarından beş farklı klasik kemoterapötik ile EGFR, mTOR ve c-Met'i hedefleyen üç farklı moleküler hedefe yönelik ajan ikili kombinasyonlar şeklinde dört farklı mide adenokarsinomu hücre modelinde test edilmektedir. Eş zamanlı uygulamaların yanı sıra, her bir kombinasyondaki ilaç çiftleri, iki farklı sıralama ve uygulamalar arasında beş farklı zaman aralığı olmak üzere on ayrı şema ile uygulanmaktadır. Her bir uygulama şemasında sinerjizmin derecesi Chou-Talalay Metodu ile ölçülmektedir.

Bulgular: Bulgularımız mide kanseri hücrelerinde kemoterapötik – moleküler hedefe yönelik ajanların ikili kombinasyonlarında, ilaç uygulamaları arasındaki bekleme zamanının ve ilaçların uygulanma sırasının sinerjizmin derecesini belirleyen önemli faktörler olduğunu göstermektedir.

Sonuç: Bu projede tanımlanacak kombinasyon şemaları, mide kanseri tedavisinde kemoterapötik – moleküler hedefe yönelik ajan kombinasyonlarının başarısını arttırma bakımından önemli bir potansiyel taşıyacaktır.

Defining the synergistic sequential application schedules for chemotherapeutic-molecular targeted agent dual combinations in gastric adenocarcinoma cells

Özen Leylek^{1,3}, Gülnihal Özcan^{2,3}

¹Koc University Graduate School of Health Sciences, Istanbul, Turkey

²Koc University School of Medicine, Istanbul, Turkey

³Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM), İstanbul, Türkiye

Objective: Gastric cancer is the third leading cause of deaths from cancer. Today's chemotherapy protocols are mostly based on administration of synergistic anti-cancer drugs concomitantly to the patients in chemotherapy sessions. However, this strategy could not achieve a significant increase in overall survival. Therefore, there is an urgent need for new strategies to increase the success of combination chemotherapy in gastric cancer.

Recent studies suggest that administration of anti-cancer drugs with an appropriate time-interval and order can increase the degree of synergism. In this project, we investigate how the time-interval and order of application affect the efficacy of chemotherapeutic-molecular targeted agent dual combinations and aim to determine the sequential application schedules that achieve maximum synergistic effect in gastric cancer.

Materials-Methods: Dual combinations of five different chemotherapeutics from anthracyclins, platinum derivatives, taxanes, fluoropyrimidines and topoisomerase inhibitors, and three different molecular-targeted agents targeting EGFR, mTOR or c-Met are being tested on four different gastric adenocarcinoma cell lines. In addition to concomitant application, drug pairs at each combination are being applied according to ten different schedules at which the drugs are applied with two different orders and five different time-intervals. The degree of synergism at each schedule is measured with Chou-Talalay Method.

Results: Our findings show that time-interval and order of application for chemotherapeutic-molecular targeted agent dual combinations are important determinants of the degree of synergism.

Conclusion: The combination schedules that will be defined in this project would have a high potential to increase the success of chemotherapeutic-molecular targeted agent combinations in gastric cancer treatment.

Bu çalışma, 3501 Kariyer Geliştirme Programı (KBAG-117Z460) tarafından desteklenmektedir ve TC Kalkınma Bakanlığı tarafından desteklenen, Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM)'nın hizmet ve altyapısı kullanılarak yürütülmüştür. Yazının içeriğinden tümüyle yazarlar sorumludur. TÜBİTAK ve Kalkınma Bakanlığı'nın resmi görüşünü yansıtmamaktadır.



PS – 043 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Hypericum Perforatum ekstraktlarının insan glioblastoma hücre hattındaki etkisi üzerine bir çalışma

Ferda Tanacı¹, Dilek Göktürk²

¹Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve Mühendislik Bilimleri Anabilim Dalı

²Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

Amaç:Hypericum perforatum, dünyanın ılıman bölgelerinde yükselen yapraklı bir bitkidir. Arkaik dönemlerden itibaren, kaygı, depresyon, yaralanma ve yanıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Araştırmacılar, Hypericum perforatum'un kanser, iltihaplanma ile ilgili hastalıklar, bakteri ve virüslerin neden olduğu hastalıklar ve bir antioksidan ve nöro-koruyucu faktör olarak birçok hastalığın tedavisinde aktif rol oynadığını öne sürmektedir.

Bu çalışmada, Glioblastoma U-87 MG (ATCC® HTB-14™) kanser hücre hattındaki Hypericum perforatum'un etanol ve izopropanol özütlerinin tek başına ve etoposid ile eş zamanlı olarak sitotoksik etkileri MTT testi ile incelenmiştir.

Gereç-Yöntem:İlk olarak, Hypericum perforatum'un (1gr/100ml) etanol ve izopropanol özütleri solventler içerisinde 10 dakika kaynatılarak hazırlandı. Bu ekstraktlar 24 gözlü plakalarda büyütülen Glioblastoma U-87 MG (ATCC® HTB-14™) hücrelerine tek tek ve aynı anda 50 µM etoposid ile birlikte eklendi ve altı gün boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresinden sonra MTT analizleri yapıldı. Her bir plaka gözünün absorbans değeri 570 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Testler üçlü olarak yapıldı. Hücre canlılığı yüzdeleri kontrol gruplarına göre hesaplandı.

Bulgular:Sonuç olarak, Hypericum perforatum ekstraktlarının U87 Mg Glioblastoma hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin doza ve çözücüye bağlı olduğu görülmüştür. Etanol ekstraktının 6 günlük inkübasyon süresi sonunda 1/25' lik dilüsyonunun glioblastoma hücrelerinin sayısını azalttığı ve ayrıca etoposidin sitotoksik etkisini arttırdığı, bununla birlikte daha yüksek dozların ise hücre sayısını arttırdığı gözlenmiştir. Bunların yanında izopropanol ekstraktı için sitotoksik etki gözlenmemiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, çalışmamızda elde edilen bulgular Hypericum perforatum etanol ekstraktının, glioblastomaya karşı yeni, anti-proliferatif bir ajan olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Ancak daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Bu çalışma Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi tarafından 18332005 numaralı Lisans Üstü Tez Projesi olarak desteklenmiştir.

A study on cytotoxic effects of Hypericum Perforatum extracts on human glioblastoma cell line

Ferda Tanacı¹, Dilek Göktürk²

¹Adana Alparslan Türkeş Science and Technology University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Nanotechnology and Engineering Sciences

²Adana Alparslan Türkeş Science and Technology University, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering

Objective: Hypericum perforatum is a foliated plant that raises in nearly all of the world's mild areas. From archaic times, it is utilized for the cure of many disorders such as anxiety, depression, incisions, and scalds.

Researchers suggest that it has active role in the cure of several illnesses, like cancer, diseases related with inflammation, and illnesses caused by bacterias and viruses, and as an anti-oxidant and neuro-protective factor. In this study the ethanol and isopropanol extracts of Hypericum perforatum on Glioblastoma U-87 MG (ATCC® HTB-14™) cancer cell line was examined concurrent with etoposide by MTT assay.

Materials-Methods: Firstly the ethanol and isopropanol extracts of Hypericum perforatum (1gr/100ml) were prepared by boiling for 10 minutes. This extracts were added in various dilutions singly and concurrently with 50 µM etoposide to Glioblastoma U-87 MG cells which were grown in 24 well plates. Cultures were incubated for six days. After the incubation period MTT assays were performed. Absorbance values of each well were measured at 570 nm. Assays were performed in triplicate. Cell viability percentages were calculated with respect to control groups.

Results:As a result it was observed that the cytotoxic effect of Hypericum perforatum extracts on glioblastoma cell line is dose and solvent dependent. It was observed that for 6 days incubation period when 1/25 dilution of ethanol extract decreased the number of cancer cells and also increased the cytotoxic effect of etoposide, however higher doses increased the cell number. Beside these for isopropanol extract no cytotoxic effect was observed.

Conclusion: As conclusion the results of this study indicates that Hypericum perforatum ethanol extract owns the potential of being a new, antiproliferative agent against glioblastoma but further investigations are needed.

This study was supported by Adana Alparslan Türkeş Science and Technology University as Master Thesis Project No. 18332005.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 045 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Doz ve Uygulama Şemasının Mide Kanseri Hücrelerinde Doksorubisine Direnç Gelişim Hızına Etkisi

Hande Özkan¹, Gülnihal Özcan²

¹Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

Günümüz kemoterapi protokolleri, kemoterapötiklerin hastalara aralıklı seanslarla ve maksimum tolere edilebilir dozda (MTD) uygulanmasına dayanmaktadır. Aralıklı-yüksek doz uygulama kısa vadede tümör kütleinde küçülmeye neden olsa da, sağkalan hücreler uzun vadede dirençli klonlar oluşturarak tümörün yeniden büyümesine neden olmaktadır. Bu nedenle, bu strateji ile uzun-vadeli sağkalımda artış sağlanamamaktadır. Yakın zamanda kemoterapötiklerin MTD altındaki düşük dozlarda uzun süreli uygulanması ile kemoterapiye direnç gelişim hızının azaltılabileceği ve uzun vadeli sağ-kalım oranının artırılabilceğini öne sürmüştür. Bu hipotezi mide kanserinde test etmek için bu çalışmada mide adenokarsinomu hücreleri doksorubisine aralıklı-yüksek doz ve sürekli-düşük doz olmak üzere iki farklı protokol ile maruz bırakılmıştır. Direnç gelişimini izlemek için MTT hücre sağ-kalım essayi ile doksorubisin konsantrasyon-yanıt eğrileri incelenmiş ve direnç indeksi hesaplanmıştır. Hücre popülasyonundaki morfolojik ve topolojik değişiklikler mikroskopik olarak incelenmiştir. Aralıklı-yüksek doz uygulama ile direnç indeksinin, sürekli-düşük doz uygulamaya kıyasla daha hızlı arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, aralıklı-yüksek doz uygulama, AGS hücrelerinde belirgin morfolojik değişikliklere ve çok çekirdekli dev hücrelerin seçilmesine neden olmuştur. Bu çok çekirdekli dev hücrelerin ilaçsız ortamda başlangıç hücre popülasyonunu tekrar oluşturabildiği gözlenmiştir. Sürekli-düşük doz uygulama ise başlangıç popülasyon topolojisinde belirgin bir değişime neden olmamıştır. Ön verilerimiz sürekli-düşük doz uygulamanın direnç gelişim hızını yavaşlatabileceğini ve kemoterapide yeni bir strateji olarak denenebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma, TC Kalkınma Bakanlığı tarafından desteklenen, Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM) 'nin hizmet ve altyapısı kullanılarak yürütülmüştür. Yazının içeriğinden tümüyle yazarlar sorumludur ve Kalkınma Bakanlığı 'nın resmi görüşünü yansıtmamaktadır.

How dose and duration of exposure affect the rate of acquired resistance to doxorubicin in gastric cancer?

Hande Özkan¹, Gülnihal Özcan²

¹Koc University Graduate School of Health Sciences, Istanbul, Turkey

²Koc University School of Medicine, Istanbul, Turkey

Today's chemotherapy protocols are based on the administration of chemotherapeutics at maximum tolerated doses (MTD) with intermittent chemotherapy sessions. Although these protocols decrease the size of the tumor at the short-term, remaining cancer cells develop chemoresistant clones which cause the regrowth of the tumor at later stages. Therefore, an increase in long-term survival could not be achieved with this strategy.

Recently it was suggested that doses below MTD applied over a longer period of time may decrease the rate of acquired resistance and increase overall survival, despite a lower anti-cancer efficacy at the short-term. To test this hypothesis in gastric cancer, we exposed gastric adenocarcinoma cells to doxorubicin, with a high dose-intermittent protocol or low dose-continuous protocol. The development of chemoresistance was monitored through investigation of doxorubicin concentration-response curves with MTT assay and calculation of resistance index. Morphological and topological changes in cell populations were observed microscopically. Our preliminary findings suggest that, high doses of doxorubicin applied over a short-term may induce a higher increase in resistance index compared to lower doses applied over a longer period of time. We also observed that a specific group of multi-nucleated giant cells were selected by high dose-intermittent application and these cells replenished the original cell population during the drug-free interval. On the other hand, the topology of the initial cell population was mostly preserved with low dose-continuous exposure. These results suggest that, low dose-continuous administration of doxorubicin might be tested as a strategy to decrease rate of acquired resistance in gastric cancer.

The authors gratefully acknowledge use of the services and facilities of the Koç University Research Center for Translational Medicine (KUTTAM), funded by the Presidency of Turkey, Presidency of Strategy and Budget. The content is solely the responsibility of the authors and does not necessarily represent the official views of the Presidency of Strategy and Budget.



PS – 074 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Metforminin, etoposid ve sisplatin ile birlikte insan pankreas kanser hücre hattı üzerine etkisinin incelenmesi

Meryem Damla Özdemir, Dilek Göktürk

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi,
Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

Amaç: Pankreas kanseri; kötü prognozlu seyreden ölümcül bir kanser türüdür. Metformin tip 2 diyabet tedavisinde sıkça kullanılan bir ilaçtır. Bu çalışmada metforminin, tek başına, ve etoposid ve sisplatin ile birlikte insan pankreas kanser hücre hattı üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: İnsan pankreas epitelyal karsinoma hücre hattı olan MIAPaCa-2 (ATCC® CRL-1420™) hücreleri kullanılmıştır. 24 gözlü hücre plakasına ekilen hücreler kontrol grubu hariç tutularak 24 saat boyunca 60,58 mM metformin, 0,34 mM etoposid ve 1000mM sisplatin maruz bırakılmıştır. Metformin hücrelere tek başına, etoposid ile birlikte, sisplatin ile birlikte ve her ikisiyle birlikte verilmiş, ayrıca etoposid ve sisplatin de hücrelere tek başına ve ikisi birlikte verilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda hücre canlılığı MTT testi ile ölçülmüştür.

Bulgular: MTT test sonucuna göre hücre canlılığının metformin, etoposid ve sisplatinin tek başına verildiği kültürlerde sırasıyla; %57.5, %56.5 ve %78.7 oranında azaldığı, metformin ve etoposid, metformin ve sisplatin, etoposid ve sisplatin verilen kültürlerde ise sırasıyla %67.4, %80.3, %83 oranında azaldığı görülmüştür. Ayrıca her 3 ajanın da birlikte verildiği hücrelerde canlılık %91 oranında azalmıştır.

Sonuç: Bulgular metforminin pankreas kanseri hücreleri üzerinde tek başına da öldürücü etkisi olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte etoposid ve sisplatin; metforminle birlikte kullanıldığında daha yüksek oranda sitotoksik etki görülmektedir. Bu 3 ajan birlikte kullanıldığında ise çok daha yüksek öldürücü etkiye ulaşılabilmektedir. Elde edilen bulgular, metforminin kemoterapi ajanlarına direnç gösteren kanser hücrelerinde, kemoterapinin etkinliğinin artırılmasında faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte daha fazla sayıda in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Investigation of the effect of metformin on human pancreatic cancer cell line with etoposide and cisplatin

Meryem Damla Özdemir, Dilek Göktürk

Adana Alparslan Türkeş Science and Technology University,
Faculty of Engineering, Department of Bioengineering

Objective: Pancreatic cancer; is a lethal cancer with poor prognosis. Metformin is commonly utilized drug for the type-2 diabetes. The goal of this study was to examine the effects of metformin on human pancreatic cancer cell line alone and in combination with etoposide and cisplatin.

Materials-Methods: In this study MIAPaCa-2 (ATCC® CRL-1420™), the human pancreatic epithelial carcinoma cell line, were used. Cells were seeded in a 24-well plate and were exposed to 60.58 mM metformin, 0.34 mM etoposide and 1000 mM cisplatin for 24 hours, excluding the control group. Metformin was given to the cells alone, with etoposide, with cisplatin, and with both of them. Also etoposide and cisplatin were given to the cells alone and together. After 24 hours incubation period the cell viabilities of cultures were analysed by MTT assay.

Results: According to MTT assay, the cell viabilities of only metformin, etoposide and cisplatin given cultures were decreased by; 57.5%, 56.5% and 78.7% respectively. At the other side the cell viabilities of metformin and etoposide, metformin and cisplatin, etoposide and cisplatin together given cultures were decreased by 67.4%, 80.3%, 83% respectively. In addition, the viability of all 3 agents given cells were decreased by 91%.

Conclusion: The findings suggest that metformin may be useful for increasing the efficiency of chemotherapy in cancer cells which are resistant to chemotherapy agents. However, more in vitro and in vivo studies are needed.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 078 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Yeni Sentezlenen Bor Ester Bileşiklerinin Karaciğer Kanser Hücrelerinde in Vitro Sitotoksik Etkileri

Gamze NAMALIR¹, Gülçin ALP AVCI¹, Tuğba UYSAL KILIÇ¹, Melda BOLAT BÜLTER², Emre AVCI¹, Dursun Ali KÖSE², Cumhuriyet BİLGİ³

¹Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Çorum

²Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Anorganik Kimya Ana Bilim Dalı, Çorum

³Yüksek İhtisas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Hepatoselüler karsinom (HCC), dünyadaki en yaygın beşinci kanser olup kanserle ilişkili ölümlerin üçüncü en sık görülen nedenidir. Son yıllarda, sitotoksikite, antioksidan aktivite ve potansiyel terapötik dahil olmak üzere biyolojik etkileriyle ilgili birçok kanserin (karaciğer kanseri hücreleri, akciğer kanseri hücreleri ve kolon kanseri hücreleri) tedavisinde bor bileşiklerinin kullanımı çalışmalar raporlanmıştır. Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş salisilik asit ve laktoz borat diesterlerinin karaciğer hepatoselüler hücre hattı (HepG2) ve sağlıklı murin fibroblast hücre hattı (L929) üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırıldı. 5×10^3 hücre üç tekrarlı olarak kuyulara ekildi ve 1,25-2 ve 5 μM konsantrasyonlarında iki bor bileşiği uygulandıktan sonra 24 saat ve 48 saat inkübasyona bırakıldı. Her kuyuya 20 μL CellTiter 96 AQueous One Solution ayıraç (Promega) eklendi. % 5 CO₂ inkübatörde 4 saat inkübasyonun ardından, her 24 saat ve 48 saatte 490 nm'de absorbans okutuldu. HepG2 hücrelerinde 48 saat inkübasyondan sonra salisilik asit diesterlerinin 1,25- 2,5-5 μM borat konsantrasyonlarında belirgin bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu tespit edildi (sırasıyla % 70, % 62 ve % 41). L929 hücrelerinde 1,25- 2,5-5 μM konsantrasyonlarının bu derece bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı gözlemlenmiştir. Laktoz borat diesterlerinin HepG2 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 1,25 μM , 2,5 μM ve 5 μM konsantrasyonlarında 48 saat inkübasyon sonrasında sırasıyla % 25, % 36 ve % 47 olarak gözlemlendi. Sonuçlarımız, salisilik asit borat diesterlerinin HepG2 üzerinde borat laktoz diesterlerinden daha etkili olduğunu ve özellikle salisilik asit borat diesterlerinin, sağlıklı fibroblastlara kıyasla daha belirgin sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Yeni sentezlenen biyolojik olarak aktif bu iki bor bileşiği, karaciğer kanseri hücrelerini hedef alan etkili anti-kanser ajanlarının tasarlanması için yeni bir kimyasal olarak düşünülebilir.

In Vitro Cytotoxic Effects of Newly Synthesized Boron Ester Compounds on Liver Cancer Cells

Gamze NAMALIR¹, Gülçin ALP AVCI¹, Tuğba UYSAL KILIÇ¹, Melda BOLAT BÜLTER², Emre AVCI¹, Dursun Ali KÖSE², Cumhuriyet BİLGİ³

¹Faculty of Arts and Sciences, Department of Molecular Biology, Hitit University, Corum, Turkey

²Faculty of Arts and Sciences, Department of Inorganic Chemistry, Hitit University, Corum, Turkey

³High Specialized University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common cancer in worldwide and the third most common cause of cancer associated mortality. In recent years, a number of research studies has reported on the use of boron compounds in the treatment of several cancers (liver cancer cells, lung cancer cells and colon cancer cells) related to their biological effects, including cytotoxicity, antioxidant activity and potential therapeutic benefits. In this study we investigated the cytotoxic effects of newly synthesized borate diesters of salicylic acid and lactose on a liver hepatocellular cell line (HepG2) and healthy murine fibroblast cell line (L929). 5×10^3 cells with 1,25- 2-5-10 μM of two boron compounds were plated into triplicate well in a 96-well and incubated 24h and 48h. 20 μL of CellTiter 96 AQueous One Solution reagent (Promega) was added to each well. After 4 h incubation in humidified 5% CO₂ atmosphere, absorbance at 490 nm was recorded every 24 h and 48h. We found 1,25- 2,5- 5 μM concentrations of borate diesters of salicylic acid has a remarkably cytotoxic effect after 48 hours incubation in HepG2 cells (70 %, 62%, and 41% respectively) whereas 1,25- 2,5- 5 μM concentrations in L929 cells does not have such cytotoxic effect. Cytotoxic effects of borate diesters of lactose at 1,25 μM , 2,5 μM and 5 μM were 25%, 36% and 47% after 48 hours incubation in HepG2 cells, respectively. Our results suggest that borate diesters of salicylic acid are more effective than borate diesters of lactose on the HepG2, and borate diesters of salicylic acid in particular showed a cytotoxic effect on HepG2 in comparison to healthy fibroblasts. The newly synthesis of biologically active these two boron compounds may be considered as a new type of chemical for designing effective anti-cancer agents targeting liver cancer cells.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 001 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Gastrointestinal kanser hastalarında irinotekan ve oksaliplatin direncinde IL-6/JAK/STAT3 sinyal yolağının etkisi

Merve Nur İnce¹, Gamze Güney Eskiler², Asuman Deveci Özkan², Erhan Bezdegümel¹, Zeynep Özman³, Merve Almula Bakırdöğen⁴, Elvan Şahin⁵, Ahmet Yasir Men¹, Cemil Bilir⁶, Süleyman Kaleli²

¹Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dönem 3, Sakarya

²Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

³Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Sakarya

⁴Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

⁵Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

⁶Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Sakarya

Amaç: Gastrointestinal (GI) kanserler, GI sistemde (yemek borusu, mide, safra kesesi, karaciğer, pankreas, bağırsak ve rektum) gelişen tümörler olarak tanımlanmaktadır. Irinotekan (IRI) ve oksaliplatin (OXA) GI kanser tiplerinin tedavisinde kullanılmasına rağmen, hastalarda gelişen ilaç direnci kötü prognoza ve metastaza neden olmaktadır. IL-6/JAK/STAT3 sinyal yolağı kanser tiplerinde aşırı aktive olarak, hücre proliferasyonu, metastaz ve anyijenez gibi farklı biyolojik süreçlerde rol almaktadır ve kötü prognozla ilişkilidir. İnterlökin 6 (IL-6), tümör mikro-çevresinde bulunan farklı hücreler tarafından üretilen bir sitokindir. IL-6, kanser hücrelerinin proliferasyonunu sağlayan hedef genleri aktive eden sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3)'ü etkileyerek, STAT3'ün farklı kanser tiplerinde aşırı ekspresyonuna neden olmaktadır. Mevcut çalışmada, ilk kez 30 GI kanser hastasında IRI ve OXA direncinde IL-6 ve STAT3'ün prognostik potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Bu kapsamda, 15 IRI ve/veya OXA-dirençli (R) ve 15 IRI ve/veya OXA-duyarlı (S) GI kanser hastasından ve kontrol grubundan (10) toplanan kan örneklerinden IL-6 ve STAT3 ekspresyon seviyeleri RT-PCR analiziyle tespit edilmiştir.

Bulgular: IRI+OXA-R grubunda IL-6 ve STAT3 ekspresyon seviyeleri sırasıyla 18.8- ve 10.2- kat iken, IRI+OXA-S grubunda ekspresyon seviyelerinin sırasıyla 8.5- ve -1.1- kat azaldığı belirlenmiştir (p<0.05). Ayrıca IRI-R grubunda IRI-S grubuna göre IL-6 ve STAT3 ekspresyon seviyelerinin arttığı belirlenmesine rağmen, OXA-R grubunda OXA-S grubuna göre ekspresyon seviyelerinin azaldığı gözlemlenmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, GI kanser hastalarında IRI+OXO ve IRI direncinin gelişmesinde IL-6/JAK/STAT3 sinyal yolağının potansiyel prognostik etkisi belirlenmiştir. Ancak, daha kapsamlı bir örneklem grubunda IL-6 ve STAT3'ün prognostik öneminin valide edilmesi ve OXA direncine neden olan diğer sinyal yollarının belirlenmesi için detaylı çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

The effects of IL-6/JAK/STAT3 signaling pathway on irinotecan and oxaliplatin resistance in gastrointestinal cancer patients

Merve Nur İnce¹, Gamze Güney Eskiler², Asuman Deveci Özkan², Erhan Bezdegümel¹, Zeynep Özman³, Merve Almula Bakırdöğen⁴, Elvan Şahin⁵, Ahmet Yasir Men¹, Cemil Bilir⁶, Süleyman Kaleli²

¹Sakarya University, Faculty of Medicine, 3rd Year, Sakarya

²Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Sakarya

³Sakarya University, Institute of Health Science, Department of Medical Biochemistry, Sakarya

⁴Sakarya University, Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Sakarya

⁵Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Sakarya

⁶Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Oncology, Sakarya

Objective: Gastrointestinal (GI) cancers are defined as malignancies originating from the GI tract (esophagus, stomach, gallbladder, liver, pancreas, intestines and rectum). Although irinotecan (IRI) and oxaliplatin (OXO) have been used for the treatment of GI cancers, drug resistance in patients can result in poor prognosis and metastasis. IL-6/JAK/STAT3 signaling pathway is hyperactivated in some cancer types and plays a role in different biological processes including cell proliferation, metastasis, and angiogenesis. Interleukin 6 (IL-6) is an inflammatory cytokine that present in the tumor microenvironment and is produced by different cells. IL-6 is the main activator of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) which mediates the expression of genes responsible for cell proliferation and induces the overexpression of STAT3 in different types of cancers. The aim of the present study was to determine the prognostic potential of IL-6 and STAT3 in IRI and OXA resistant 30 GI cancer patients, for the first time.

Materials-Methods: Blood samples were collected from 15 IRI and/or OXA-resistant (R), and 15 IRI and/or OXA-resistant (S) GI cancer patients and from healthy control (10), then the expression levels of IL-6 and STAT3 were analyzed by RT-PCR.

Results: In IRI+OXA-R group, the expression levels of IL-6 and STAT3 were 18.8- and 10.2-fold respectively, whereas 8.5- and -1.1-fold decrease were detected in these expression levels, respectively in IRI+OXA-S group (p<0.05).

Furthermore, IL-6 and STAT3 expression levels were increased in IRI-R group compared with IRI-S group. However, OXA-R group expressed lower levels of IL-6 and STAT3 than OXA-S group.

Conclusion: In conclusion, IL-6/JAK/STAT3 signaling pathway could be a potential prognostic factor for IRI+OXO and IRI resistance in GI cancer patients. However, further studies are needed to validate the prognostic significance of IL-6 and STAT3 and to identify different signaling pathways causing OXA resistance in a larger sample group.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 002 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Pankreas Kanseri Hastalarında İrinotekan Direncinde *GSK3β* ve *SMAD4*'ün Ekspresyon Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Merve Almula Bakırdöğen¹, Gamze Güney Eskiler², Asuman Deveci Özkan², Zeynep Özman³, Erhan Bezdegümel⁴, Merve Nur İnce⁴, Elvan Şahin⁵, Cemil Bilir⁶, Süleyman Kaleli²

¹Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

²Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

³Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Sakarya

⁴Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dönem 3, Sakarya

⁵Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

⁶Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Sakarya

Amaç: Pankreas kanseri agresif klinik seyrinden ve ileri evrede teşhis edildiğinden dolayı, hastalarda sağ kalım oranının oldukça düşük olduğu bir kanser türüdür. Pankreas kanseri tedavisinde farklı kemoterapik ilaçlar kullanılmasına rağmen, hastalarda kemoterapik ajanlara karşı gelişen ilaç direnci tedavinin etkinliğini engellemektedir. Glikojen sentaz kinaz 3-beta (*GSK3β*) birçok biyomolekülün fosforillenmesinden sorumlu bir serin/treonin kinazdır ve pankreas kanseri hücrelerinin proliferasyonu ile ilişkilidir. *SMAD4*, TGF-β yolağında yer alan bir transkripsiyon faktörüdür ve ileri evre pankreas kanseri hastalarının ~%45'inde migrasyon, invazyon ve metastaza neden olduğu bilinmektedir. *GSK3β* sitozolik β-katenin'i fosforile ederek β-katenin'in stabilitesini düzenlemekte iken, *SMAD4* nükleusta β-katenin'e bağlanarak, Wnt sinyal yolağı ile ilişkili hedef genlerin ekspresyonunda rol almaktadır. Mevcut çalışmada ilk kez irinotekan (IRI) dirençli (IRI-R) ve IRI-duyarlı (IRI-S) pankreas kanseri hastalarında *GSK3β* ve *SMAD4* ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu kapsamda, 10 IRI-R ve 10 IRI-S pankreas kanseri hastasından ve 10 sağlıklı bireyden toplanan kan örneklerinden RNA izole edildikten sonra, RT-PCR analizi ile *GSK3β* ve *SMAD4* ekspresyon seviyelerindeki değişimler analiz edilmiştir.

Bulgular: IRI-R hastalarda kontrol grubuna göre, *GSK3β* ve *SMAD4* ekspresyon seviyeleri sırasıyla -11.6 ve 12.7-kat olarak tespit edilmesine rağmen, IRI-S hastalarda, *GSK3β* ve *SMAD4* mRNA düzeyleri sırasıyla -1.5 ve 6.2-kat olarak belirlenmiştir (p<0.05).

Sonuç: Sonuç olarak, pankreas kanseri hastalarında IRI direncinde *GSK3β* ve *SMAD4*'ün potansiyel etkisine dair ilk ön veriler elde edilmiştir. Ancak, daha kapsamlı bir hasta grubunda TGF-β ve Wnt sinyal yollarının IRI direncinde rolünün aydınlatılmasına yönelik detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Evaluation of the expression level of *GSK3β* and *SMAD4* in irinotecan resistant pancreatic cancer patients

Merve Almula Bakırdöğen¹, Gamze Güney Eskiler², Asuman Deveci Özkan², Zeynep Özman³, Erhan Bezdegümel⁴, Merve Nur İnce⁴, Elvan Şahin⁵, Cemil Bilir⁶, Süleyman Kaleli²

¹Sakarya University, Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Sakarya

²Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Sakarya

³Sakarya University, Institute of Health Science, Department of Medical Biochemistry, Sakarya

⁴Sakarya University, Faculty of Medicine, 3rd Year, Sakarya

⁵Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Sakarya

⁶Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Oncology, Sakarya

Objective: Pancreatic cancer is a clinically aggressive type of cancer with a considerably low survival rate in patients due to an aggressive clinical course and the late stage at diagnosis. Although different chemotherapy agents are currently used in the treatment of pancreatic cancer, drug resistance to chemotherapeutic agents in patients prevents the efficacy of the treatment. Glycogen synthase 3-beta (*GSK3β*) is a serine/threonine kinase responsible for the phosphorylation of various biomolecules and is associated with the proliferation of pancreatic cancer cells. *SMAD4* is a transcription factor in the TGF-β pathway and is known to cause migration, invasion and metastasis in ~45% of advanced pancreatic cancer patients. *GSK3β* regulates the stability of β-catenin by phosphorylating cytosolic β-catenin, while *SMAD4* is involved in the expression of target genes associated with the Wnt signaling pathway by binding to β-catenin in the nucleus. The aim of the present study was for the first time to determine the changes in the expression levels of *GSK3β* and *SMAD4* in irinotecan (IRI) resistant (IRI-R) and IRI sensitive (IRI-S) pancreatic cancer patients.

Materials-Methods: In this context, after RNA was isolated from blood samples collected from 10 IRI-R and 10 IRI-S pancreatic cancer patients and 10 healthy individuals, the changes in the *GSK3β* and *SMAD4* expression levels were analyzed by RT-PCR analysis.

Results: Although *GSK3β* and *SMAD4* expression levels were -11.6 and 12.7-fold in IRI-R patients, respectively, *GSK3β* and *SMAD4* mRNA levels were found to be -1.5 and 6.2-fold, in IRI-S patients respectively (p<0.05).

Conclusion: Consequently, preliminary data support the potential effect of *GSK3β* and *SMAD4* on IRI resistant in pancreatic cancer patients. However, further studies are needed to elucidate the role of TGF-β and Wnt signaling pathways in IRI resistance in a larger patient population.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 003 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Kanser hastalarında AKT-temelli GSK3 β 'nın kaşeksi gelişiminde rolünün belirlenmesi

Zeynep Özman¹, Gamze Güney Eskiler², Cemil Bilir³, Asuman Deveci Özkan², Merve Almula Bakırdöğen⁴, Merve Nur İnce⁵, Erhan Bezdegümel⁵, Oğuzhan Aktaş⁶, Süleyman Kaleli²

¹Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

²Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

³Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Sakarya, Türkiye

⁴Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

⁵Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dönem 3, Sakarya, Türkiye

⁶Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dönem 2, Sakarya, Türkiye

Amaç: Kaşeksi, kanser hastalarının %50-80'inde gözlemlenen, hastaların prognozunu ve mortalitesini etkileyen ve aşırı kilo ve iskelet kas kütlesi kaybı ile karakterize olan çok faktörlü bir sendromdur. Farklı sinyal yollarının kanser hastalarında kaşeksi gelişimiyle ilişkili olduğu belirlenmesine rağmen, kaşeksinin patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Fosfoinozitol 3 kinaz (PI3K)-Akt sinyal yolağı hücre metabolizmayı, hücre sağ kalımını ve proliferasyonunu düzenleyen temel sinyal yollarından biridir. Glikojen sentaz kinaz 3-beta (GSK3 β) ise, hücre proliferasyonu ve enerji metabolizması gibi farklı biyolojik süreçlerde rol alan bir enzimdir. Akt, GSK3 β 'yı fosforile ve inaktive ederek kas kütlesinin regülasyonunu ve protein sentezini kontrol etmektedir. Ayrıca, Akt'nin kanser hastalarında yüksek ekspresyonu olduğu ve kötü prognoza ilişkisi literatürde bilinmektedir. Bu kapsamda ilk kez meme ve akciğer kanseri hastalarında Akt-temelli GSK3 β 'nın ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin kaşeksi gelişiminde prognostik öneminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Mevcut çalışmaya 12 kaşektik ve 12 kaşektik olmayan akciğer ve meme kanseri tanısı almış hasta ve 10 sağlıklı birey dâhil edilerek toplanan kan örneklerinden RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Sonrasında, kaşektik ve kaşektik olmayan kanser hastalarında kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak RT-PCR ile Akt ve GSK3 β 'nın ekspresyon seviyelerindeki değişimler analiz edilmiştir.

Bulgular: Kaşektik akciğer hastalarında Akt ve GSK3 β 'nın mRNA seviyeleri sırasıyla 13.1- ve -5.6- kat iken, kaşektik olmayan hastalarda ekspresyon seviyeleri sırasıyla 4.3- ve -11.2-kat olarak tespit edilmiştir (p<0.05). Kaşektik meme kanseri hastalarında ise Akt ve GSK3 β 'nın ekspresyon seviyeleri sırasıyla 7.8- ve -1.6- kat olmasına rağmen, kaşektik olmayan hastalarda mRNA seviyeleri sırasıyla 18.1- ve -1.2- kat olduğu belirlenmiştir (p<0.05).

Sonuç: Sonuç olarak, Akt ve GSK3 β 'nın kaşektik akciğer ve meme kanseri hastalarında ekspresyon seviyelerinde değişimlerin farklı olduğu görülmektedir. Bu değişimlerin meme kanseri hastalarının daha erken evrede tanı almalarından ve daha yüksek vücut kitle indeksine sahip olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle, her bir kanser tipine özgü olarak daha kapsamlı bir hasta grubunda PI3K-Akt sinyal yolağının ve GSK3 β 'nın

kaşekside prognostik rolünün belirlenmesi için detaylı analizlerin yapılması gerekmektedir.

Identification of the role of AKT-dependent GSK3 β in the development of cachexia in cancer patients

Zeynep Özman¹, Gamze Güney Eskiler², Cemil Bilir³, Asuman Deveci Özkan², Merve Almula Bakırdöğen⁴, Merve Nur İnce⁵, Erhan Bezdegümel⁵, Oğuzhan Aktaş⁶, Süleyman Kaleli²

¹Sakarya University, Institute of Health Science, Department of Medical Biochemistry, Sakarya, Turkey

²Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Sakarya, Turkey

³Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Oncology, Sakarya, Turkey

⁴Sakarya University, Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Sakarya, Turkey

⁵Sakarya University, Faculty of Medicine, 3rd Year, Sakarya, Turkey

⁶Sakarya University, Faculty of Medicine, 2nd Year, Sakarya, Turkey

Objective: Cachexia is a multifactorial syndrome observed in 50-80% of cancer patients and characterized by the loss of weight and skeletal muscle mass. Although different signaling pathways have been associated with cachexia in cancer patients, the pathogenesis of cachexia has not been fully elucidated. Phosphoinositide-3-kinase (PI3K)-Akt signaling pathway is one of the main signaling pathway that regulates cellular metabolism and proliferation. Glycogen synthase kinase-3-beta (GSK3 β) is an enzyme involved in different biological processes including cell proliferation and energy metabolism. Akt controls the regulation of muscle mass and protein synthesis by inactivating GSK3 β . However, Akt is highly expressed in cancer patients and associated with poor prognosis. We determined the prognostic significance of the expression level of Akt-based GSK3 β in cachectic breast and lung cancer patients.

Materials-Methods: 12 cachectic and 12 non-cachectic lung and breast cancer patients and 10 healthy individuals were included in this study and RNA was isolated from blood samples. Changes in the expression levels of Akt and GSK3 β were analyzed by RT-PCR in cachectic and non-cachectic cancer patients.

Results: In cachectic lung cancer patients, mRNA levels of Akt and GSK3 β were 13.1- and -5.6- fold, respectively, whereas the expression level of these genes was 4.3- and -11.2-fold, respectively in non-cachectic patients (p<0.05). Although the expression levels of Akt and GSK3 β were 7.8- and -1.6- fold, respectively in cachectic breast cancer patients, the mRNA level of these genes was 18.1- and -1.2- fold, respectively in non-cachectic patients (p<0.05).

Conclusion: Consequently, the changes in the expression levels of Akt and GSK3 β were different in cachectic lung and breast cancer patients because breast cancer patients are diagnosed at an early stage with a higher body mass index. Therefore, further studies are required to determine the prognostic role of PI3K-Akt signaling pathway and GSK3 β in a more comprehensive patient group specific to each cancer type.



PS – 004 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Propofolün in-vitro beyin kanser hücrelerine sitotoksik, apoptotik ve PI3K-AKT signal yolağı genleri üzerine etkisi

Tuba Gökdoğan Edgünlü¹, Çığır Biray Avcı², Sevim Karakaş Çelik³, Neslihan Pınar Özateş Ay², Bakiye Uğur⁴

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

³Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD

⁴Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.

Amaç: Propofol (2,6-diizopropilfenol), yaygın olarak kullanılan bir intravenöz anestezi maddesidir. Propofol PI3K-AKT yolağı üzerinde etki mekanizmasının olduğu bilinmektedir. Bu çalışma, propofolün insan glioma hücrelerinin proliferasyonu, apoptozu üzerindeki etkisini değerlendirmeyi ve bunun yanı sıra PI3K-AKT sinyal yolağındaki genlerin ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerin araştırılması amaçlamıştır.

Gereç-Yöntem: Propofol'ün U-87 MG hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi WST-1 yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Apoptozun flow sitometri ile ölçülmesinde Annexin V afinite testi ve Mitoprobe JC-1 kullanılmıştır. PI3K-AKT sinyal yolundaki genlerin ekspresyon düzeyleri QPCR ile araştırılmıştır. Bulgular: Propofol'ün U-87 MG hücrelerinde apoptozu madde uygulanmayan kontrole göre 23,16 kat artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, PI3K-AKT sinyal yolu genleri ekspresyon düzeylerinde belirgin farklılıklar tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamızın sonucunda propofolün PI3K-AKT sinyal yolu genleri ekspresyon düzeylerinde farklılıklara neden olduğu ve bu farklılıkların apoptozu indüklediği tespit edilmiştir.

The effect of propofol on cytotoxic, apoptotic and PI3K-AKT signaling pathways genes in in-vitro brain cancer cells

Tuba Gökdoğan Edgünlü¹, Çığır Biray Avcı², Sevim Karakaş Çelik³, Neslihan Pınar Özateş Ay², Bakiye Uğur⁴

¹Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

²Ege University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

³Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Department of Medical Genetic

⁴Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Anesthesiology and Reanimation

Objective: Propofol (2,6-diisopropylphenol) is a commonly used intravenous anesthetic. Propofol is known to have a mechanism of action on the PI3K-AKT pathway. This study aimed to evaluate the effect of propofol on the proliferation and apoptosis of human glioma cells, as well as to investigate changes in expression levels of genes in the PI3K-AKT signaling pathway.

Materials-Methods: The cytotoxic effect of propofol on the U-87 MG cell line was determined by WST-1 method. Annexin V affinity test and Mitoprobe JC-1 were used to measure apoptosis by flow cytometry. Expression levels of genes in the PI3K-AKT signaling pathway were investigated by QPCR.

Results: We have shown that, propofol induced apoptosis in U-87 MG cells by 23.16 fold compared to control without substance. Furthermore, significant differences were found in the expression levels of the PI3K-AKT signaling pathway genes.

Conclusion: As a result of our study, it was found that propofol caused differences in expression levels of PI3K-AKT signaling pathway genes and these differences induced apoptosis.



PS – 005 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Non-Fonksiyonel Hipofiz Adenomu Patogenezinin Transkriptom Analizleri ile İncelenmesi

Nisa Devrim Uzkul¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu², Elif
Büşra Işık¹, Elmas Tuna İskenderoğlu¹, Naci Çine²,
Burak Çabuk³, Savaş Ceylan³, Hakan Savlı²

¹Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik
ve Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim
Dalı, Kocaeli, Türkiye

³Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Ana Bilim Dalı,
Kocaeli, Türkiye

Amaç: Hipofiz adenomlarının yaklaşık %25-30 'unu non-fonksiyonel hipofiz adenomları oluşturmaktadır. Non -fonksiyonel hipofiz adenomlarının %40 'ı invazyon gösterirler. İmmünohistokimyasal çalışmalar, moleküler biyoloji teknikleri ve in vitro çalışmalar non-fonksiyonel adenomların daha detaylı sınıflandırılmasına olanak sağlamıştır. Amacımız; Non-Fonksiyonel hipofiz adenomları patogenezinin gen ağları ve yolak analizleriyle mRNA düzeyinde araştırılmasıdır. **Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı'na başvuran non-fonksiyonel hipofiz adenomu tanısı almış 45 tümör dokusu, 8 normal hipofiz dokusunda gen ekspresyonu mikroarray çalışması yapıldı. IPA (Ingenuity Pathway Analysis) analiziyle non-fonksiyonel hipofiz adenomları ile ilgili sinyal yolları ve PPE (protein-protein etkileşimi) ağları oluşturularak tümör oluşumuna sebep olan anahtar genler tespit edildi.

Bulgular: Yaptığımız mikroarray analizleri sonucunda 2698 genin ekspresyon değişikliği saptandı. Bu genlerden 270'nin ekspresyonun arttığı, 2428'nin ekspresyonun azaldığı tespit edildi. Ekspresyonun en çok arttığı gen CASKIN2, ekspresyonun en çok azaldığı gen S100A7A olarak bulundu. PPE ağında saptanan anahtar genler şunlardır: CCND1, BRCA1, HNF1A, POU5F1, GATA4, SOX2, NUPR1 ve FOXA1.

Sonuç: Yapılan bu mikroarray analizi sonucunda CCND1, BRCA1, HNF1A, POU5F1, GATA4, SOX2, NUPR1 ve FOXA1 genleri ileride yapılacak çalışmalara araştırılması gereken birer potansiyel biyobelirteç adayı olarak belirlendi. Elde ettiğimiz çalışmamız non-fonksiyonel hipofiz adenomlarının tanı ve tedavisinde yol gösterici olabilir.

An Investigation of Non-Functioning Pituitary Adenoma Pathogenesis by Transcriptome Analysis

Nisa Devrim Uzkul¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu², Elif
Büşra Işık¹, Elmas Tuna İskenderoğlu¹, Naci Çine²,
Burak Çabuk³, Savaş Ceylan³, Hakan Savlı²

¹Kocaeli University Institute of Health Sciences, Department of
Medical Genetics and Molecular Biology, Kocaeli, Turkey

²Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Medical
Genetics, Kocaeli, Turkey

³Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of
Neurosurgery, Kocaeli, Turkey

Objective: Approximately 25-30% of pituitary adenomas are non-functional pituitary adenomas. Forty percent of non-functioning pituitary adenomas are invasive. Immunohistochemical studies, molecular biology techniques and in vitro studies have allowed more detailed classification of non-functioning adenomas. Our aim was to investigate the pathogenesis of non-functioning pituitary adenomas is to be investigated at mRNA level by gene networks and pathway analysis. **Materials-Methods:** In our study, gene expression microarray was performed in 8 normal pituitary tissues and 45 tumors samples obtained from patients with non-functioning pituitary adenomas diagnosed from Kocaeli University Faculty of Medicine Neurosurgery Department. Using IPA analysis, we identified signaling pathways and PPI (protein-protein interaction) networks to identify the key genes associated with nonfunctioning pituitary adenomas.

Results: 270 up-regulated, 2428 down-regulated DEGs were identified in nonfunctioning pituitary adenoma samples compared to normal pituitary tissues. CCND1, BRCA1, HNF1A, POU5F1, GATA4, SOX2, NUPR1 ve and FOXA1.

Conclusion: 270 up-regulated, 2428 down-regulated DEGs were identified in nonfunctioning pituitary adenoma samples compared to normal pituitary tissues. CCND1, BRCA1, HNF1A, POU5F1, GATA4, SOX2, NUPR1 ve and FOXA1.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 006 POSTER BİLDİRİ / KANSER

VS-5584, Ponatinib'in Kronik Miyeloid Lösemi hücreleri üzerindeki anti-proliferatif etkisini artırır

Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹, Aycan Aşık¹,
Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Fatma Söğütü¹, Röya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Güray Saydam³, Çığır Biray
Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
İzmir

²Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,
Lefkoşa

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir

Amaç: Ponatinib, Kronik Miyeloid Löseminin (KML) seçici tedavisinde kullanılan BCR-ABL1 tirozin kinaz inhibitörüdür. VS-5584, KML ve lösemi kök hücrelerinde (LKH) aktif olduğu bilinen PI3K/Akt/mTOR yolağını hedefleyen PI3K/mTOR dual-inhibitörüdür. Ponatinib ve VS-5584 kombinasyonunun KML hücreleri ve LKH'ler üzerindeki anti-proliferatif etkilerinin mekanizmalarını moleküler düzeyde araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: VS-5584, Ponatinib ve kombinasyonlarının K562 ve LSC hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri WST-8 testiyle değerlendirildi. Hücre döngüsü regülasyonu "BD Cycletest Kit" kullanılarak akım sitometride incelendi. Uygun vektörlerin transfeksiyonunu takiben E2F/DP1, Myc/Max, C/EBP transkripsiyon faktörlerinin aktiviteleri dual-lusiferaz raporör analizi ile kantite edildi. PI negatif (canlı) ve CD133 pozitif (kök) hücreler popülasyonundaki sessiz hücre fraksiyonu CFSE boyama ile belirlendi. Hücre döngüsü, NFkB, MAPK, PI3K/Akt/mTOR ve JAK/STAT sinyal yollarıyla ilişkili genlerin ifadeleri qRT-PCR ile değerlendirildi.

Bulgular: K562 ve LSC hücrelerinde sinerjistik etki sergileyen Ponatinib VS-5584 kombinasyonunun, G₀/G₁ arrestine neden olarak proliferasyonu inhibe ettiği belirlendi. CFSE boyama sonuçları, G₀ fazındaki sessiz LKH'lerin VS-5584 uygulaması sonrasında azaldığını ortaya koydu. Kombinasyon uygulaması sonrasında E2F/DP1, Myc/Max proteinlerinin transkripsiyonel aktivitelerinin baskılanmasının ve C/EBP proteininin transkripsiyonel aktivasyonunun gen ekspresyon profillerinin düzenlenmesi ile ilişkili olduğu belirlendi. Yalnız Ponatinib ile muamele edilen hücrelere kıyasla, Ponatinib ve VS-5584 kombinasyonu ile muamele edilen K562 ve/veya LSC hücrelerinde CCNB1, MYC, AKT1, MTOR, EIF4E, CRKL, RPS6KA1, SOCS3, NFKBIA, FOS, GRB2, JUN ve NRAS genlerinin ekspresyonlarında daha belirgin aşağı regülasyonlar olduğu saptandı. VS-5584 uygulamasının her iki hücre hattında da Ponatinib aracılı CEBPA yukarı regülasyonunu arttırdığı belirlendi. Ayrıca, LSC hücrelerinde en yüksek CDKN2C yukarı regülasyonu kombinasyon uygulamasını takiben gözlemlendi. Belirgin bir şekilde, normal hematopoetik kök hücreler VS-5584 Ponatinib kombinasyon terapisinden en

az etkilenen hücrelerdi.

Sonuç: Ponatinib ve VS-5584 kombinasyonu, KML blastlarının ve LKH'lerinin kontrolsüz proliferasyonunu inhibe edebilen umut verici bir tedavi stratejisi olabilir.

VS-5584 enhances the anti-proliferative effects of Ponatinib on Chronic Myeloid Leukemia cells

Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹, Aycan Aşık¹,
Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Fatma Söğütü¹, Röya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Güray Saydam³, Çığır Biray
Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege University Faculty of Medicine, Medical Biology
Department, İzmir

²Near East University Vocational School of Health Sciences,
Nicosia

³Ege University Faculty of Medicine, Division of Hematology,
İzmir

Objective: Ponatinib is a third generation tyrosine kinase inhibitor that targets BCR-ABL1 fusion protein for selective treatment of Chronic myeloid leukemia (CML). PI3K/Akt/mTOR pathway known to be active in CML and Leukemia stem cells (LSC). VS-5584 is a selective PI3K/mTOR dual-inhibitor. We aimed to investigate the mechanisms of anti-proliferative effects of ponatinib and VS-5584 combination on CML cells and LSCs at molecular level.

Materials-Methods: Cytotoxic effects of VS-5584, Ponatinib and their combinations on K562 and LSC cell lines were measured with WST-8 assay. Cell cycle regulations were investigated with "BD Cycletest Kit" by flow cytometry. The quantitations of transcriptional activities of E2F/DP1, Myc/Max, C/EBP with dual--luciferase reporter assay after transfection of appropriate vectors were analyzed. PI negative (viable) and CD133 positive (stem) cells stained with CFSE to assess quiescent cell fraction. Expressions of genes related to cell cycle, NFkB, MAPK, PI3K/Akt/mTOR, and JAK/STAT signaling pathways evaluated by qRT-PCR.

Results: Ponatinib and VS-5584 combination was synergistic and inhibited proliferation via G₀/G₁ arrest in K562 and LSC. CFSE staining results revealed that quiescent LSCs in G₀ phase reduced after VS-5584 treatment. Suppressions of E2F/DP1, Myc/Max and activation of C/EBP with combination treatment contributed to the regulation of gene expression profiles. In K562 and/or LSC cells treated with the combination of Ponatinib and VS-5584, expressions of CCNB1, MYC, AKT1, MTOR, EIF4E, CRKL, RPS6KA1, SOCS3, NFKBIA, FOS, GRB2, JUN, and NRAS were down-regulated more prominently than those treated with Ponatinib. VS5584 enhanced the Ponatinib related upregulation of CEBPA in both cell lines. Also, the highest upregulation of CDKN2C in LSC observed with the combination treatment. Prominently, normal



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 006 POSTER BİLDİRİ / KANSER

hematopoietic stem cells were the least affected cells by the combination therapy.

Conclusion: The combination of Ponatinib and VS-5584 can be a promising treatment strategy that can inhibit the uncontrolled proliferation of CML blasts and LSCs.

K562 hücrelerinde Ponatinib ve VS-5584 uygulaması sonrasında K562 hücrelerindeki gen ekspresyon kat değişimleri
Gene expression fold changes with Ponatinib and VS-5584 treatment in K562 cells

K562							
Sinyal Yoluğu	Gen	Ponatinib		VS-5584		Pon + VS	
		IC ₅₀	IC ₇₅	IC ₅₀	IC ₇₅	ED ₅₀	ED ₇₅
Hücre Döngüsü	CCNB1	-	-	-	-4.90	-2.21	-2.63
	MYC	-	-2.02	U	U	-2.58	U
PI3K/Akt/mTOR	AKT1	-	-	-	-3.35	-	-4.99
	CEBPA	-	2.08	-	3.25	-	2.50
	CRKL	-	-	-	-6.33	-	-3.89
	EIF4E	-	-	-	-6.55	-	-4.15
	FOXO3	3.59	3.70	-	-	-	2.06
	MTOR	-	-2.19	-	-2.58	-	-2.93
JAK/STAT	SOCS1	-11.29	-13.29	-	-9.70	-	-12.29
	SOCS3	-	-6.75	-	-2.62	-	-4.89
NFkB	NFKBIA	2.84	-	-	-3.56	-	-2.86
MAPK	FOS	-	-2.31	-	-2.64	-2.39	-7.08
	GRB2	-	-	-	-8.24	-	-4.37
	JUN	7.60	10.12	-4.22	-7.97	-	-10.70
	JUNB	-	3.63	-	-	-	2.47

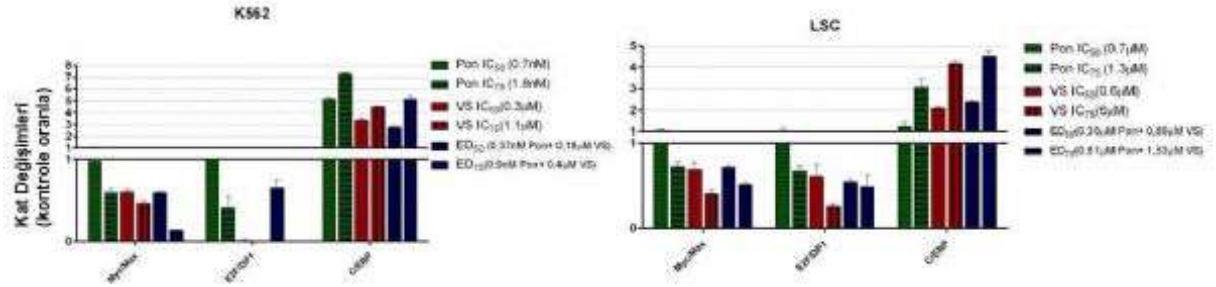
K562 hücrelerinde Ponatinib ve VS-5584 uygulaması sonrasında LSC hücrelerindeki gen ekspresyon kat değişimleri
Gene expression fold changes with Ponatinib and VS-5584 treatment in LSC cells

LSC							
Sinyal Yoluğu	Gen	Ponatinib		VS-5584		Pon + VS	
		IC ₅₀	IC ₇₅	IC ₅₀	IC ₇₅	ED ₅₀	ED ₇₅
Hücre Döngüsü	CCNB1	-	-	-2.87	-4.03	-2.20	-3.21
	CDKN2C	-	-	2.52	3.14	4.20	6.02
	MYC	-	-2.38	-2.47	-3.37	-3.02	-3.19
PI3K/Akt/mTOR	AKT1	-	-	-	-2.56	-	-2.11
	CEBPA	-	-	-	2.33	-	2.25
	EIF4E	-	-	-	-2.87	-	-2.77
	MTOR	-	-2.12	-	-2.73	-	-4.09
	PDK1	-4.55	-5.97	-3.87	-5.86	-3.11	-5.49
	RPS6KA1	-	-	-	-3.97	-	-3.02
JAK/STAT	SOCS3	-	-3.30	-	-5.99	-	-7.04
NFkB	NFKBIA	-	-3.07	-	-2.38	-	-2.01
MAPK	FOS	-	-2.33	-	-3.06	-	-2.76
	NRAS	-	-	-	-2.91	-	-2.27



PS – 006 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Ponatinib ve VS-5584 muamelesi sonrası transkripsiyon faktörü aktivitelerindeki değişiklikler
Changes in transcription factor activities after ponatinib and VS-5584 treatment





TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 008 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Papiller Tiroid Kanseri Transkriptom Analizi ile Anahtar Genlerin Saptanması

Elif Büşra Işık¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu², Nisa Devrim Uzkul¹, Elmas Tuna İskenderoğlu¹, Naci Çine², Nuh Zafer Cantürk³, Hakan Savlı²

¹Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kocaeli

³Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Kocaeli

Amaç: Papiller tiroid kanseri (PTK), tiroid kanser tipleri arasında en yaygın olanıdır. PTK'lerin prognozları oldukça iyidir fakat agresif formlara da dönüşebilirler. Bu çalışmada papiller tiroid kanser örnekleri ile normal tiroid örnekleri arasında ekspresyon farklılığı gösteren genleri tanımlamayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada 20 papiller tiroid kanseri hastası ve 10 normal tiroid hastası ile gen ekspresyon mikroyarray çalışması yaptık. IPA analizi ile PTK ile ilgili sinyal yollarını ve PPE (protein-protein etkileşimi) ağları oluşturarak hastalığa sebep olan anahtar genleri tespit ettik.

Bulgular: Papiller tiroid kanseri dokularıyla normal tiroid dokuları karşılaştırıldığında 1554 genin ekspresyonu artarken, 912 genin ekspresyonunun azaldığı tespit edildi. Pıhtılaşma sistem yolağı en anlamlı yolak olarak bulundu ve SERPINA1 ekspresyonu en fazla artan gen olarak tespit edildi. PPE gen ağında saptanan anahtar genler şunlardır: CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAÜ ve MDM2. Bu çalışmada ekspresyonu artan genler arasında olan SFN geni PTC ile en ilişkili gen olarak bulundu.

Sonuç: SERPINA1, CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAÜ ve MDM2 genlerinin deregülasyonu ve pıhtılaşma sistem yolağı PTC gelişimine katkıda bulunabilir. SFN, PTC için tanı, prognoz ve yeni antikanser ilaç yaklaşımlarında önemli bir gen olabilir. Çalışmamızda tanımlanan DEG'lerin fonksiyonlarını doğrulamak için daha ileri deneyler gerekmektedir.

Identification of Key Genes in Papillary Thyroid Cancer By Transcriptome Analysis

Elif Büşra Işık¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu², Nisa Devrim Uzkul¹, Elmas Tuna İskenderoğlu¹, Naci Çine², Nuh Zafer Cantürk³, Hakan Savlı²

¹Kocaeli University Institute of Health Sciences, Department of Medical Genetics and Molecular Biology, Kocaeli, Turkey

²Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics and Molecular Biology, Kocaeli

³Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Kocaeli

Objective: Papillary thyroid cancer (PTC) is the most common type of thyroid malignancies. PTC has good prognosis, but it can dedifferentiate into aggressive forms. In this study, we aimed to identify differentially expressed genes (DEGs) between PTC samples and normal controls.

Materials-Methods: We used gene expression microarrays to identify DEGs between 20 PTC samples and 10 normal controls. We performed enrichment analysis to discover biological processes and signaling pathways associated with PTC and construct protein-protein interaction (PPI) networks to find out key genes for the disease.

Results: We identified 1554 up-regulated and 912 down-regulated DEGs in PTC samples compared to normal controls. The coagulation system was the most significant pathway and SERPINA1 was the most up-regulated gene of this pathway. CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAÜ and MDM2 were key nodes in PPI networks. Causal network analysis revealed that SFN, which was one of the up-regulated DEGs found in our study, was the most causative upstream regulator for PTC.

Conclusion: Deregulation of SERPINA1, CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAÜ and MDM2 genes and coagulation system pathway may contribute to PTC development. SFN may be an important gene in diagnosis, prognosis and novel anticancer drug approaches for PTC. Further experiments are required to confirm the functions of identified DEGs in our study.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 009 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Glioblastoma Tedavisi İçin Geliştirilen Katı Lipid Nanopartiküllerinin In Vitro Etkinliğinin Belirlenmesi

Buket Özel¹, Nur Selvi Günel¹, Güliz Ak², Ayşe Ünal², Tuğba Karakayalı², Şenay Hamarat Şanlıer²

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü, İzmir, Türkiye

Amaç: Glioblastoma, en malign beyin tümörlerindendir ve primer beyin tümörlerinin %22.6 - 27'ni oluşturmaktadır. Kan-beyin bariyerinin (BBB) aşılması gerekliliği glioblastomayı tedavide güç hale getirmektedir. Katı lipid nanopartikülleri (SLNs) intranasal yoldan BBB boyunca beyne ilaç iletimini arttırmak için kullanılabilir. β -hidroksibutirat (HBA), BBB'de ifade edilen monokarboksilik asit taşıyıcı (MCT) substratıdır. Karmustin (BCNU) ve temozolomid (TMZ) beyin tümörlerinde sık kullanılan ilaçlar olmakla birlikte kısa yarı ömür ve yan etkilere sahiptirler. Bu çalışmada, BCNU ve TMZ'in daha uzun süre daha etkili olmasını sağlamak için intranasal uygulama yoluyla glioblastoma tedavisi için kapsüllenmiş SLN geliştirmeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: SLN, sıcak homojenizasyon tekniği ile hazırlanmıştır. SA (Stearylamine) ve HBA amid bağı ile konjuge edilmiştir. Konjugat, FTIR ve HNMR ile analiz edilip nanopartiküllerin içine enkapsülasyon için ilaçlar ilave edilmiştir. SLN karakterizasyonu, FTIR, TGA, SEM, TEM ve zetasizer ile gerçekleştirilmiştir. İlaç salımı ve biyoyumluluk testleri yapılmıştır. Hücre kültürü çalışmaları, U87MG ve bEnd.3 hücreleri ile gerçekleştirilmiştir. Sitotoksikite analizi için MTT, apoptoz analizi için Annexin V yöntemi uygulanmıştır. **Bulgular:** Analiz sonuçlarına göre, konjugat amid bağı ile başarıyla hazırlanmıştır ve karmustin ile temozolomid, sırasıyla % 78 ve % 90.77 verimle nanopartikül içine kapsüllenmiştir. Sitotoksikite sonuçlarımıza göre, katı lipid nanopartiküllerinin sağlıklı hücelere herhangi bir yan etkisi olmadığı in vitro koşullarda saptanmıştır. Apoptoz sonuçlarına göre, U87MG hücrelerinde, serbest BCNU-TMZ kombinasyonuna kıyasla çift ilaç yüklü SLN uygulanan hücelerde apoptoz artışı gözlenmiştir. Serbest BCNU ve TMZ kombinasyonunun 7.5 $\mu\text{g/ml}$ 'lik dozunda 1.3 kat, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 'lik dozunda 1.9 kat apoptoz artışı gözlenirken, TMZ ve BCNU yüklü SLN'nin 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik dozunda 1.7 kat 500 $\mu\text{g/ml}$ dozunda 2.3 kat apoptoz oranı belirlenmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, boyut, ilaç salımının kontrolü, diğer taşıyıcılara kıyasla daha fazla ilaç yükleme kapasiteleri gibi avantajlarından dolayı katı lipid nanopartikülleri son dönemde ilgi odağı olmuştur. Ayrıca, geliştirdiğimiz yapının sağlıklı hücelere sitotoksik etki göstermemesi göz önüne alındığında, ileri çalışmalar ile desteklenerek glioblastoma tedavisi için umut vadedeceğini düşünmekteyiz.

Determination of In vitro Effectiveness of Developed Solid Lipid Nanoparticles For The Treatment of Glioblastoma

Buket Özel¹, Nur Selvi Günel¹, Güliz Ak², Ayşe Ünal², Tuğba Karakayalı², Şenay Hamarat Şanlıer²

¹Ege University School of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir, Turkey

²Ege University Faculty of Science, Biochemistry Department, Izmir, Turkey

Objective: Glioblastoma is the most malignant brain tumor and constitutes 22.6-27% of primary brain tumors. The need to across the blood-brain barrier (BBB) makes glioblastoma difficult to treat. Solid lipid nanoparticles (SLNs) can be used intranasally to increase drug delivery to the brain through BBB. β -hydroxybutyrate (HBA) is a substrate of monocarboxylic acid transporter (MCT) which is expressed on BBB. Although carmustine (BCNU) and temozolomide (TMZ) are commonly used in brain tumors, they have short half-life.

We aimed to develop encapsulated SLNs for the treatment of glioblastoma by intranasal administration to ensure that BCNU and TMZ are more effective.

Materials-Methods: SLN was prepared by hot homogenization technique. SA (Stearylamine) and HBA were conjugated with amide bond. The conjugate was analyzed by FTIR and HNMR, then drugs were added for encapsulation. Nanoparticles were characterized by FTIR, TGA, SEM, TEM and zetasizer. Cell culture studies were performed with U87MG and bEnd.3 cells. MTT was used for cytotoxicity and Annexin V method was used for apoptosis analysis.

Results: According to the results, the conjugate was successfully prepared by amide bond, carmustine and temozolomide were encapsulated into nanoparticles in a yield of 78% and 90.77%, respectively. SLNs had no adverse effects on healthy cells in vitro. U87MG cells, treated with developed SLN, showed an increased apoptosis ratio compared to the free drug combination. While apoptosis was increased 1.3-fold and 1.9-fold with 7.5 $\mu\text{g/ml}$ and 12.5 $\mu\text{g/ml}$ of free BCNU and TMZ combination, dual drug loaded SLN treated cells showed 1.7 and 2.3-fold increased apoptosis with 300 $\mu\text{g/ml}$ and 500 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Conclusion: Consequently, SLNs have become center of interest due to their advantages such as size, control of drug release and higher drug loading capacities. We suggest that SLNs have potent for glioblastoma therapy if supported by further studies.

Bu proje 117S241 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmektedir.



PS – 009 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Şekil 1, Figure 1

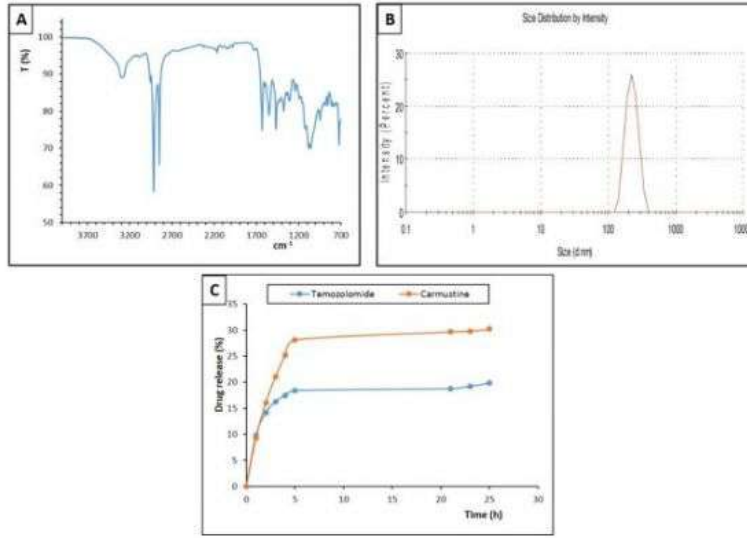


Figure 1. FTIR spectrum of SA and HBA conjugate (A). Hydrodynamic size distribution of BCNU and TMZ loaded SLNs (B). BCNU and TMZ release from SLNs at pH 7.4 (C).

Şekil 1: (A) SA ve HBA konjugatının FTIR spektrumu. (B) BCNU ve TMZ yüklü SLN'lerin hidrodinamik boyut dağılımı. (C) BCNU ve TMZ, pH 7.4'te SLN'lerden salınımı.

Figure 1: FTIR spectrum of SA and HBA conjugate (A). Hydrodynamic size distribution of BCNU and TMZ loaded SLNs (B). BCNU and TMZ release from SLNs at pH 7.4 (C).

Şekil2, Figure 2

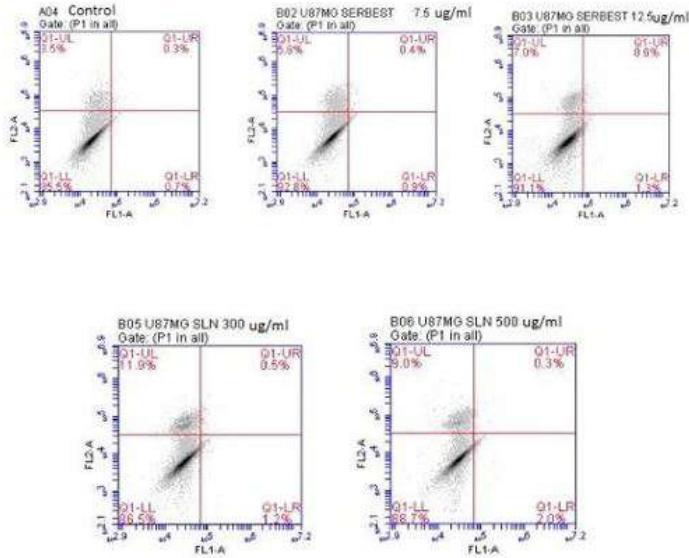


Figure 2: Apoptosis (Annexin V) results on U87MG cell line

U87MG hücre hattında Apoptozis (Annexin V) sonuçları
Apoptosis (Annexin V) results on U87MG cell line



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 010 POSTER BİLDİRİ / KANSER

miR-29b-2-5p'nin HER2+ meme kanseri hücrelerinde trastuzumab etkinliğindeki rolü

İştar Burcu Dolapçı¹, Fatma Funda Demirsoy¹, Hakan Gürdal², Bala Gür Dedeoğlu¹

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

²Ankara Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Meme kanseri, gen ifade profillerine göre moleküler alt tiplere ayrılır ve etkin tedavi yöntemleri alt tiplere göre belirlenir. HER2 ifadesinin artış gösterdiği alt tip (HER2+) için en sık kullanılan ilaç insan monoklonal antikoru trastuzumabdır (Herceptin). Ancak metastatik tümörlerde birinci yılın sonunda ilaç direncine sıklıkla rastlanır. MikroRNA'lar (miRNA) 19-23 nükleotid uzunluğunda olup transkripsiyon sonrasında gen ifadesini düzenleyici olarak görev yaparlar ve son zamanlarda yapılan çalışmalarda kanser yollarındaki kilit noktalarda rol oynadıkları ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada, miR-29b-2-5p'nin trastuzumaba duyarlı HER2+ meme kanseri hücrelerindeki antikanser etkinliğinin ve trastuzumab etkinliğindeki rolünün açıklanması hedeflenmiştir. Çalışmada HER2+ hücre hattı olarak SKBR3 kullanılmıştır ve miR-29b-2-5p'nin hücrelerin proliferasyon ve motiliteleri üzerine ve trastuzumab duyarlılığına olan etkisi araştırılmıştır. xCELLigence real-time cell analyzer kullanılarak proliferasyon ve motilite deneyleri yapılmıştır. miR-29b-2-5p'nin potansiyel hedef genleri biyoinformatik olarak belirlenmiştir. Bu hedef genler, proliferasyon, motilite ve trastuzumab direnci ile alakalı genler ile kesiştirilmiş ve ortak genlerle yolak zenginleştirme analizleri yapılmıştır. miR-29b-2-5p ile transfekte edilmiş SKBR3 hücrelerinde proliferasyon ve hücre hareketliliğinin anlamlı şekilde azaldığı ve trastuzumab etkinliğinin arttığı gözlenmiştir. miR-29b-2-5p hedef genleri ile gerçekleştirilmiş olan yolak zenginleştirme analizleri bu miRNA'nın proliferasyon ve motiliteyi fokal adezyon, MAPK ve PI3K-Akt sinyal yollarını ve apoptoz sürecini etkileyerek düzenleyebileceğine işaret etmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda, miR-29b-2-5p'nin HER2+ meme kanseri tedavisinde terapötik hedef olarak kullanılması düşünülebilir.

miR-29b-2-5p regulates the sensitivity of HER2+ breast cancer cells to trastuzumab

İştar Burcu Dolapçı¹, Fatma Funda Demirsoy¹, Hakan Gürdal², Bala Gür Dedeoğlu¹

¹Ankara University Biotechnology Institute

²Ankara University Department of Pharmacology

Breast cancer is classified into different molecular subtypes according to gene expression profiles and an effective treatment is determined according to these subtypes. The most commonly used treatment for the HER2 overexpressing subtype (HER2+) is human monoclonal antibody trastuzumab (Herceptin). However, resistance to the drug frequently occurs after one year in metastatic tumors. MicroRNAs (miRNAs) are 19-23 nucleotide long small RNAs, which regulate gene expression in post-transcriptional level. Recent studies show that they have some key roles in cancer related pathways. In this study, the aim is explaining the anticancer activity of miR-29b-2-5p in trastuzumab sensitive HER2+ breast cancer cells and the role of this miRNA in trastuzumab effectiveness. SKBR3 is used as a HER2+ cell line and the effect of miR-29b-2-5p in proliferation and motility capacities of these cells and in their sensitivity to trastuzumab is investigated. Proliferation and motility experiments are performed by using xCELLigence real-time cell analyzer. Potential target genes of miR-29b-2-5p were determined bioinformatically. These target genes were intersected with the genes that are related to proliferation, motility, and trastuzumab resistance and pathway enrichment analyses was performed with the common genes. In miR-29b-2-5p transfected SKBR3 cells, a significant decrease in proliferation and cell motility and an increase in trastuzumab sensitivity were observed. The pathway enrichment analyses performed with the miR-29b-2-5p target genes showed that this miRNA could regulate proliferation and motility through focal adhesion, MAPK and PI3K-Akt signaling pathways and apoptosis process. According to these results, miR-29b-2-5p could be suggested as a therapeutic target in HER2+ breast cancer treatment.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 013 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Hepatoselüler karsinoma hücre hatlarında HGF geni promotöründe deoksiadenozin kuyruk elementinde (DATE) delesyon mutasyonu varlığının incelenmesi ve sorafenib direnci ile ilişkisinin değerlendirilmesi

Mesude Angın, Ayşim Güneş, Neşe Atabey

*İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, Balçova, İzmir
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı, Bornova, İzmir*

Amaç: Karaciğerin en sık görülen primer malignitesi olan hepatoselüler karsinom (HCC) tedavisinde kullanılan Sorafenib oral bir multikinaz inhibitördür. Direnç gelişmesi nedeniyle bu ilacın kullanımı önemli ölçüde kısıtlanmaktadır. Hepatosit büyüme faktörü (HGF), hepatosit hücreleri için büyüme faktörüdür. HGF, hepatositlerde ve endotel hücrelerinde baskın şekilde eksprese edilen yüksek afiniteli reseptörü c-Met'e bağlanır. Hipotezimiz Sorafenibe dirençli hücrelerde gözlemlediğimiz HGF düzeyi artışının HGF geni promotöründeki DATE bölgesindeki mutasyonlar ile gerçekleşiyor olabileceğidir. Bu nedenle çalışmamızda sorafenib direnci gelişimi sürecinde HGF'nin promotöründe yer alan DATE bölgesinin uzunluğu ile sorafenib direnci arasında bir ilişki olup olmadığı HCC hücre hatlarında inceledik

Yöntem: Çalışmada 14 adet HCC, 1 adet normal karaciğer hücre ve sorafenibe direnç geliştirilmiş 2 hücre hattı ile bir adet insan genomik DNA'sı kullanıldı. HGF geni promotöründe bulunan DATE bölgesinin çoğaltılması uygun primerler ile ve nested PCR yöntemi ile gerçekleştirildi. Sekanslanma ile bölgede promotörde bulunan adeninden zengin tekrar bölgesinin dizisi ve uzunluğu saptandı ve hücrelerdeki HGF ekspresyon düzeyleri ile ilişkisi incelendi.

Bulgular: Çalışmamızda HGF promotöründe bazı hücre hatlarında DATE bölgesi normal sayıda tekrar olduğu belirlendi. Özellikle otokrin HGF aktivasyonu yüksek olduğu bilinen hücrelerden PLC ve Snu 398, Hep3B, Snu 182, Snu 387 hücrelerinde bu bölge uzunluğu 30 tekrardan daha kısa bulundu. Ancak literatürde belirtildiği gibi 25 adenin altında kısalmış DATE bölgesi saptanmadı. Atasal ve sorafenibe dirençli Huh-7 ve Mahlavu arasında herhangi bir fark olmadığı belirlendi.

Sonuç: Çalışmamızda HGF ekspresyonu bu hücrelerde yüksek olduğu gösterilmesine rağmen HGF geninde DATE bölgesinde sekanslama sonuçları ile bölgede uzunluğu 25 Adenin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu veri sorafenibe edinsel direnç gelişiminde ortaya çıkan HGF düzeyi artışının DATE bölgesindeki kısalmadan kaynaklanmadığını desteklemektedir. Bu hücrelerde HGF geni ekspresyon seviyelerindeki artışta promotör bölgesindeki hipometilasyon veya diğer epigenetik değişikliklerin rolünü belirlemeye yönelik ek çalışmalara ihtiyaç vardır

Investigation of deletion mutation in deoxyadenosine tail element (DATE) in HGF gene promoter in hepatocellular carcinoma cell lines and its relationship with sorafenib resistance

Mesude Angın, Ayşim Güneş, Neşe Atabey

*İzmir Biomedicine and Genome Center, Balçova, İzmir
Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical
Biology, Bornova, İzmir*

Objective: Sorafenib resistance development is a serious problem in the treatment of hepatocellular carcinoma. Hepatocyte growth factor (HGF) binds to the high affinity receptor c-Met, which is predominantly expressed in hepatocytes and endothelial cells. Our hypothesis is that the increase in HGF levels in sorafenib-resistant cells may be caused by mutations in the DATE region in the HGF gene promoter. Therefore, we investigated whether there is a relationship between sorafenib resistance and the length of DATE region located in the promoter of HGF during sorafenib resistance development in HCC cell lines.

Method: Amplification of the DATE region in the HGF gene promoter was performed by appropriate primers and nested PCR method. The sequence and length of the adenine-rich repeat region in the promoter in the region were determined and the relationship between HGF expression levels in the cells was examined.

Results: In our study, it was determined that the DATE region was normal in some cell lines. PLC and Snu 398, Hep3B, Snu 182, Snu 387 cells were found to be shorter than 30 replicates of cells with high autocrine HGF activation. However, as stated in the literature, no shortened DATE region was detected below 25 aden. There was no difference between ancestral and sorafenib-resistant Huh-7 and Mahlavu.

Conclusion: In our study, although HGF expression was shown to be high in these cells, it was determined that the HGF gene was over 25 adenin in the DATE region with sequencing results. These data support that the increase in HGF levels in the development of acquired resistance to sorafenib is not due to the shortening in the DATE region. Further studies were needed to determine the role of hypomethylation or other epigenetic changes in the promoter region in the increase in HGF gene expression levels in these cells



PS – 014 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Kanser ve Venöz Tromboz İlişkisindeki Moleküler Mekanizmaların Biyoinformatik Yaklaşım ile Araştırılması

Semih Dalkılıç¹, Seda Yılmaz², Beyza Doğanay Erdoğan³, İpek Kıvılcım Oğuzülgen⁴, Nejat Akar⁵, Hilal Özdağ²

¹Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Genomik, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ABD, Ankara, Türkiye

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ABD, Ankara, Türkiye

⁵TOBB ETÜ Hastanesi Tıp Fakültesi, Pediatri Bölümü, Ankara, Türkiye

Venöz tromboembolizm (VTE), multifaktöryel patogeneze sahip olan kompleks bir damar hastalığıdır. Kanser ve venöz tromboz arasındaki ilişki ilk defa 1865 yılında Armand Trousseau tarafından bildirilmiştir. Trousseau idiopatik venöz trombozun henüz teşhis edilmemiş gizli bir kanserin erken belirtisi olabileceğini ifade etmiştir. Ancak bu ilişkinin moleküler temelleri ve altında yatan mekanizmalar halen belirsizliğini korumaktadır. Amacımız, idiopatik VTE ile epitelyal kanserler arasındaki moleküler mekanizmayı transkriptom ebadındaki bir yaklaşımla ilk kez ortaya koymaktır.

Bu çalışmada, literatürdeki bağımsız 4 adet mikrodizajn gen ekspresyon veri seti (GEO-GSE27567, GSE37199, GSE36076, GSE19151) ile kendi veri setimiz içindeki kanser (215 vaka) ve tromboz grupları (64 vaka) meta-analize alınmıştır (BRB Array Tools). Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda, istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ ve $\pm 1,5$ kat değişimi esas alınmıştır. Meta analiz çalışmasında; Kanser ve Tromboz olmak üzere 2 ana grup oluşturularak karşılaştırmalar yapılmıştır. Bu karşılaştırmalar, meta veri setinin bireysel analizi, meta veri setinin kendi veri setimize dahil edilerek yapılan analizi ve tüm veri setlerinin bir araya getirilerek yapılan analizi kapsamaktadır. Karşılaştırmalar sonucunda elde edilen gen listeleri DAVID Biyoinformatik Analiz Programı ile incelenmiştir. Buna göre zenginleşme skoru yüksek ve işlevsel olarak anlamlı kümelerdeki genler listelenmiştir. Yolak analizleri sonucunda ise kanser ve tromboz ile ilişkili yollarda bulunan genler de tespit edilmiştir. Bütün bu analizler sonucunda kanserin gözlemlenmediği tromboz grubu içerisinde, kanserin ortaya çıkmasında rol oynayan genler tespit edilmiştir. VTE'nin henüz teşhis edilmemiş bir kanserin erken belirtisi olabileceği hipotezini destekleyebilecek olan bu genlerin kanserin erken teşhisinde kullanılabilecek biyobelirteç olma potansiyelleri bulunmaktadır.

Investigation of Molecular Mechanisms in the Relation between Cancer and Venous Thrombosis with Bioinformatics Approach

Semih Dalkılıç¹, Seda Yılmaz², Beyza Doğanay Erdoğan³, İpek Kıvılcım Oğuzülgen⁴, Nejat Akar⁵, Hilal Özdağ²

¹Fırat University, Faculty of Sciences, Department of Biology, Elazığ, Türkiye

²Ankara University, Biotechnology Institute, Genomics Department, Ankara, Turkey

³Ankara University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Ankara, Turkey

⁴Gazi University Faculty of Medicine, Department of Chest Disease, Ankara, Turkey

⁵TOBB ETU Hospital, Department of Pediatrics, Ankara, Turkey

Venous thromboembolism (VTE) is a complex and multifactorial vascular disease. The relation between cancer and venous thrombosis was first reported by Armand Trousseau in 1865. Trousseau stated that idiopathic VTE may be an early sign of an occult cancer that has not yet been diagnosed. However, the molecular basis of this relation and its underlying mechanisms remain unclear. Our aim is to reveal the molecular mechanism between idiopathic VTE and epithelial cancers for the first time with a transcriptome-wide approach.

In this study, cancer (n=215) and thrombosis (n=64) cases from four independent published microarray gene expression datasets (GSE27567, GSE37199, GSE36076, GSE19151) and our dataset were meta-analyzed with BRB Array Tools. In the comparisons between these groups, statistical significance level $p < 0.05$ and ± 1.5 fold change was used. Comparisons were made by forming two groups as cancer and thrombosis. These comparisons include individual analysis of the metadata set and analysis of the metadata set including our own data set. Differentially expressed gene lists were examined with DAVID Bioinformatics Tool. Genes of interests were selected based on enrichment scores, functional significance and pathway analysis. As a result of all these analyzes, several genes that were involved in cancer were identified in the thrombosis group where cancer was not observed. These genes, which may support the hypothesis that VTE may be an early symptom of a cancer that has not yet been diagnosed, might have the potential to become biomarkers for the early detection of cancer.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 015 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Meme Kanseri Tedavisinde miR-185-5p'nin Etkinliğinin Proteomik Yaklaşımla Belirlenmesi

Vildan Torun, Demet Cansaran Duman

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Tandoğan, Ankara

Meme kanseri dünya genelinde kadınlar arasında en yaygın görülen kanser tipleri arasındadır. Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Kanser hastalığının kişiye özgü bir hastalık olması, tedavinin kişiden kişiye farklılık gösterebilmesi nedeniyle son yıllarda farklı alternatif tedavi araştırmaları artmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda kanser tedavisinde miRNA'ların yeni nesil biyoişaretleyici ve terapötik ajan olma potansiyelini ortaya çıkarmışlardır. Meme kanseri tedavisinde rutin olarak kullanılan Tamoksifen ve Lapatinip gibi ilaçlara karşı cevap oluşturan ve tedaviye karşı etkinliği belirlenen miRNA'lar son yıllarda kanser araştırmalarının odak noktası olmuştur. Likenlerden izole edilen usnik asit sekonder metaboliti, rutin tedavide kullanılan ilaçlar kadar aday bir molekül olduğu belirlenmiştir. Gerçekleştirilen öncül çalışmada usnik asitin üç farklı meme kanseri hücreleri üzerine uygulaması sonucunda; BT-474 meme kanser hücresine karşı cevap veren miRNA'lar içinde valide edilmiş ve meme kanseri ile ilişkili yollarda işlev gösterdiği belirlenen miRNA'lardan biri de miR-185-5p'dir. Gerçekleştirilen çalışmada meme kanseri (BT-474) ve normal meme doku hücrelerinde (MCF-12A) usnik aside cevap veren miR-185-5p mimik uygulaması sonrasında protein düzeyindeki farklılaşmalar Sıvı kromatografisi/Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) tabanlı proteomik yöntemle belirlenmiştir. Hücrelerden izole edilen protein örnekleri, nano-LC-MS/MS ile tanımlanarak karşılaştırmalı proteomik analize tabi tutulmuştur. LC-MS/MS analizi sonucunda 858 tane protein tanımlanmış olup, meme kanseri ve normal meme hücreleri arasında 86 tanesinin ifadesinde anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Bu proteinlerden 53 tanesinin ifadesinde artış, 33 tanesinin ifadesinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda BT-474 meme kanser hücresine miR-185-5p mimik uygulaması ile ifade değişimi gösteren proteinler YWHAE, PAK1 ve Katepsin D proteom boyutunda tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarla, proteinlerin meme kanseri hastalığındaki rolünün belirlenmesi ve meme kanserine karşı hedeflenmiş miRNA temelli tedavi yöntemlerinin proteom boyutunda karakterizasyonu sağlanmıştır.

The Determination of miR-185-5p Efficiency in Breast Cancer Treatment by Proteomic Approach

Vildan Torun, Demet Cansaran Duman

Ankara University, Biotechnology Institute, Tandoğan, Ankara

Breast cancer is one of the most common types of cancer among women. Chemotherapy, radiotherapy and surgical methods are widely used in the treatment of cancer. Research has revealed the potential of miRNAs to become a new generation biomarker and therapeutic agent in cancer treatment. In recent years, miRNAs, which respond to drugs such as Tamoxifen and Lapatinip, are routinely used in the treatment of breast cancer. Usnic acid secondary metabolite obtained from lichens is a candidate molecule in cancer treatment. In previous study, usnic acid was applied to three different breast cancer cell lines and usnic acid responsive miRNAs were determined. As a result of this study, it was determined that miR-185-5p is a usnic acid responsive miRNA in BT-474 breast cancer cell line. According to this study result, the changes in protein level after transfection of miR-185-5p responsive to usnic acid in breast cancer (BT-474) and normal breast tissue cells (MCF-12A) were determined by liquid chromatography/mass spectrometry (LC-MS/MS) based proteomic method. Protein samples isolated from the cells were identified by nano-LC-MS/MS and subjected to comparative proteomic analysis. As a result of the analysis, 858 proteins were identified and a significant difference was found in the expression of 86 between breast cancer and normal breast cells. It was found that 53 of these proteins increased expression and 33 of them decreased expression. As a result of the study, it was detected that the proteins that showed the expression change in YWHAE, PAK1 and Cathepsin D protein fold change by the application of miR-185-5p in the BT-474 breast cancer cell line. The role of proteins in breast cancer disease and breast cancer treatment methods based on miRNA were characterized at proteomic level.



PS – 016 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Endometrium Kanseri Yapılan Transkriptom Analizlerinin Endometrium Kanseri Patogenezine İle İlişkisinin İncelenmesi

Elmas Tuna İskenderoğlu¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu²,
Nisa Devrim Uzkul¹, Elif Büşra Işık¹, Naci Çine², Emek
Doğer³, Hakan Savlı²

¹Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik
ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ve Moleküler
Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

³Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve
Doğum Anabilim Dalı, Kocaeli

Amaç: Endometrial kanser (EK), üreme sisteminin en sık görülen kanseridir. Endometrial kanserlerden yaklaşık % 90'ı sporadik ve geriye kalan% 10'u kalıtsaldır. Bu nedenle, tanısal, prognostik ve terapötik biyolojik belirteç olarak kullanılabilen genetik moleküllerin belirlenmesi esastır. Bu çalışmada, EK örnekleri ile normal kontroller arasında farklı ekspresyona olan genleri tanımlamayı amaçladık. **Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan yönlendirilen hastalardan elde edilen 26 tümör dokusu 11 sağlıklı endometrium dokusu gen ekspresyon mikroarray ile karşılaştırıldı. EK ile ilişkili sinyal yollarını ve PPE(Protein Protein Etkileşimi) ağlarını saptamak amacıyla IPA analizleri gerçekleştirildi.

Bulgular: Endometrium kanseri dokularıyla normal endometrium dokuları karşılaştırıldığında 480 genin ekspresyonu artarken, 337 genin ekspresyonunun azaldığı tespit edildi. ALDOB ekspresyonu en fazla artan gen olarak, TMEM63A ise ekspresyonu en fazla azalan gen olarak saptandı. PPE gen ağında merkez genler şunlardı: MYC, SMARCA4, NR3C1, CEBPβ, AXIN2 ve HIF1α. **Sonuç:** MYC, SMARCA4, NR3C1, CEBPβ, AXIN2, HIF1α EK için tanısında biyobelirteç olarak kullanılabilir. Verilerimiz EK tanı ve tedavisi için yol gösterici niteliktedir.

An Investigation of Transcriptome Analyzes Related To Endometrium Cancer Pathogenesis

Elmas Tuna İskenderoğlu¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu²,
Nisa Devrim Uzkul¹, Elif Büşra Işık¹, Naci Çine², Emek
Doğer³, Hakan Savlı²

¹Kocaeli University Institute of Health Sciences, Department of
Medical Genetics and Molecular Biology, Kocaeli

²Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Medical
Genetics, Kocaeli,

³Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of
Gynecology and Obstetrics, Kocaeli

Objective: Endometrial cancer (EC) is the most common cancer of the reproductive system. Approximately 90% of endometrial cancers are sporadic, and the remaining 10% are hereditary. Therefore, it is essential to identify genetic molecules that can be used as a diagnostic, prognostic, therapeutic biomarker. In this study, we aimed to identify differentially expressed genes (DEGs) between EC samples and normal controls.

Material-Metod: In our study, 26 endometrial tumors of patients who had been diagnosed with endometrium cancer and 11 healthy endometrial tissues by Kocaeli University School of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology were compared to gene expression microarray. We performed to discover the signaling pathways associated with PTC and construct protein-protein interaction (PPI) networks to find out key genes for the disease.

Results: 480 up-regulated, 337 down-regulated DEGs were identified in EC samples compared to normal endometrium tissues. MYC, SMARCA4, NR3C1, CEBPβ, AXIN2 and HIF1α were key nodes in the PPI networks.

Conclusions: MYC, SMARCA4, NR3C1, CEBPβ, AXIN2 and HIF1α were found to have potential for use as diagnostic biomarker for EC. Our study may shed light on the diagnosis and treatment of EC.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 037 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Meme kanserinde MMP2 ve TIMP1 Gen ifadesi Düzeylerinin Belirlenmesi

Seda Eren Keskin¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu¹, Hakan Savlı¹, Naci Çine¹, Nuh Zafer Cantürk², Turgay Şimşek², Sertaç Ata Güler², Mehtap Yılmaz Tezcan³

¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Kocaeli

³Mustafa Kemal Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Hatay

Meme kanseri, kadınlar arasında en yaygın invaziv kanserdir. Meme kanserinden ölümlerin büyük çoğunluğu metastaz nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Matriks metaloproteinazları ve bunların endojen inhibitörleri (TIMP), hücre dışı matriksi yeniden yapılandırılmasıyla tümörün invazyonu ve metastazında önemli rol oynamaktadır. MMP2 ve TIMP1 metastaz sürecinde rol alan başlıca moleküller arasındadır. Meme kanserinde MMP2 ve TIMP1'in hem RNA hem de protein seviyesinde farklılık gösterdiği bildirilmektedir. Çalışmanın amacı, meme kanseri dokusunda MMP2 ve TIMP1'in gen ifadesi seviyelerini ölçmek ve meme kanseri prognozundaki rollerini araştırmaktır. Çalışmamızda, 17 meme kanseri tümör dokusunda ve normal meme dokusunda Quantative Real Time PCR ile MMP2 ve TIMP1'in gen ifadesi seviyelerini karşılaştırıldı. MMP2 ve TIMP1 gen ifadesi düzeyleri ile klinikopatolojik özellikler arasındaki ilişki incelendi. Sonuçlarda, tümörlerde kontrol grubuna göre düşük MMP2 ve TIMP1 düzeyleri tespit edildi. MMP2 ve TIMP1 gen ifadesi düzeyleri ile klinikopatolojik parametreler (tümör derecesi, lenf nodu tutulumu, hormon reseptörü durumu) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmedi. Bulgularımız bu genlerin meme kanseri için, bağımsız prognostik ve prediktif belirteç olabileceğini desteklemektedir.

Quantification of MMP2 and TIMP1 Expressions in Breast Cancer

Seda Eren Keskin¹, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu¹, Hakan Savlı¹, Naci Çine¹, Nuh Zafer Cantürk², Turgay Şimşek², Sertaç Ata Güler², Mehtap Yılmaz Tezcan³

¹Department of Medical Genetics, Kocaeli University Faculty of Medicine, Kocaeli

²Department of General Surgery, Kocaeli University Faculty of Medicine, Kocaeli

³Department of Biology, Molecular Biology, Mustafa Kemal University, Hatay

Breast cancer is the most common invasive cancer among women. The great majority of deaths from breast cancer occur due to metastasis. Matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors (tissue inhibitors of metalloproteinases-TIMPs) play pivotal role in invasion and metastasis of tumor by remodelling of extracellular matrix. MMP2 and TIMP1 have been reported to altered both at RNA and protein levels in breast cancer. The aim of this study was to measure the gene expression levels of MMP2 and TIMP1 in breast cancer tissue and to investigate their role in breast cancer prognosis. Aim of study is detecting expression levels of MMP2 and TIMP1 and identifying their role in prognosis of breast cancer. In our study, we compared the mRNA expression levels of MMP2 and TIMP1 in breast cancer tumor tissue and normal breast tissue. Expression level of MMP2 and TIMP1 were analyzed by Quantative Real Time PCR. The association between the expression levels of MMP2 and TIMP1 in breast cancer and clinicopathological features was examined. Low levels of MMP2 and TIMP1 were detected in tumors compared to control group. No statistical correlation was observed between expression level of MMP2 and clinicopathological parameters (tumor grade, lymph node involvement, hormone receptor status). Our findings have been suggested that these genes might be independent prognostic and predictive marker for breast cancer.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 038 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Terapi indüklü senesens tümör/kanser hücrelerinde hücre ölüm reseptörlerinin analizi

Ayfer Karlitepe, Mehtap Kılıç Eren

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

Amaç: Kanser tedavi ajanlarıyla indüklenebilen prematüre senesens (terapi indüklü senesens (TIS)) tümörlerde kemoterapiye ve radyoterapiye önemli bir anti-proliferatif hücrel cevaptır. Ancak, TIS sonucu tümör hücrelerinin kazandığı fenotip kendilerini ve komşu hücreleri etkileyecek kademeli bir sitokin, kemokin, büyüme faktörü ve matriks metalloproteaz üretimine neden olur. Salgılanan faktörler tümör mikro-çevresi üzerinde olumsuz etkiler yaratır ve tümör büyümesini ve metastazı da teşvik eder. Dolayısıyla TIS sonucunda yaşlanmış tümör hücrelerinin kronik birikiminin önlenmesi ve hedeflenmesi için çekici bir terapötik seçenek haline gelmiştir. FAS (CD95), TNFR1 ve TRAIL-R1/2 (DR4-DR5) hücrede apoptozun doğrudan tetiklenmesini sağlayabilen en bilinen ölüm reseptörlerindendir. Bu çalışmada TIS' in indüklendiği tümör hücrelerinde hücre ölüm reseptörlerinin ekspresyon düzeyleri ve bu reseptörlerin aktivasyonu aracılığıyla bu hücrelerin hedeflenme potansiyelleri araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada p53 wt olan MCF7 meme kanser hücre dizisinde dox (0,25µM) ve eto (50µM) uygulanarak senesensin indüklenmesi sağlanmıştır. Senesens indüksiyonu β-galaktosidaz boyaması ve hücre döngüsü analizi ile test edilmiştir. p53, p21, ve γH2AX aktivasyonları western blot (WB) analizi ile test edilmiştir. Apoptozis, Annexin V analizi ile ölçülmüştür. Hücre ölüm reseptörleri (FAS (CD95), TNFR1 ve TRAIL-R1/2 (DR4-DR5)) ekspresyon düzeyleri WB analizi ile test edilmiştir.

Bulgular: Elde edilen veriler MCF-7'de her iki ilacında hücre bölünmesini G2/M fazında durdurduğunu ve DNA hasarı cevabının indüklenmesi sonucunda p53 aktivasyonu ile senesensin indüklendiğini göstermektedir. Senesensin indüklendiği hücrelerde FAS ve DR5 reseptörlerinin aktivasyonunda artış görülürken, TNFR1'in aktivasyonunda azalma tespit edilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, bu veriler düşük konsantrasyonlarda kemoterapötik kullanımıyla indüklenen senesens aracılığıyla hücre ölüm reseptörlerinin aktive edilebileceği ve tümör hücrelerin bu reseptörlerin ligandları aracılığıyla apoptozun indüklenmesiyle hedeflenebileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, düşük doz kemoterapötik ajan ile senesens başlatan tümör hücrelerinin aktive edilmiş ölüm reseptörlerine özellikle immün sistem hücrelerinde (NK, T, makrofaj) ekspresye edilen hücre ölüm liganlarının, bağlanması daha kolay ve etkili olabileceğinden TIS ve

hücrel kanser immünoterapi yaklaşımının kombin olarak kullanılma potansiyeline de işaret etmektedir.

Analysis of cell death receptors in therapy induced senescent cancer/tumor cells

Ayfer Karlitepe, Mehtap Kılıç Eren

Aydın Adnan Menderes University Medical Faculty Department of Medical Biology

Objective: Therapy induced premature senescence (TIS) induced by anti-cancer treatment is an important anti-proliferative cellular response to chemotherapy and radiotherapy in tumors. Consequently, tumor cells acquire the phenotype which results in a gradual production of cytokine, chemokine, growth factor and matrix metalloprotease that will affect tumor cells per se and neighboring cells. The secreted factors possess detrimental effects on tumor microenvironment and promote tumor growth and metastasis. Thus, targeting chronic accumulation of aging tumor cells becomes an attractive therapeutic option. FAS (CD95), TNFR1 and TRAIL-R1 / 2 (DR4-DR5) are among the most prominent death receptors capable of directly inducing apoptosis in the cell. In this study, the expression levels of cell death receptors were investigated in TIS tumor cells for their potential use in elimination of senescent cells.

Materials-Methods: Doxorubicin and etoposide were used to induce senescence in MCF7 breast cancer cell line. Senescence induction was tested by β-galactosidase staining and cell cycle analysis. Activations of p53, p21, and γ-H2AX and expression levels of cell death receptors (FAS (CD95), TNFR1 and TRAIL-R1 / 2 (DR4-DR5)) were tested by western blot analysis. Apoptosis was measured by Annexin V analysis.

Results: Here, we show that senescence is induced by G2/M arrest and by activation of p53 in MCF-7 cells. An increase in the activation of FAS and DR5 receptors was detected whereas a decrease in TNFR1 activation.

Conclusion: These data indicate that cell death receptors can be activated by low concentrations of chemotherapeutic use, and that tumor cells can be targeted by inducing apoptosis by ligands of death receptors. It also points to the potential use of TIS and cellular cancer immunotherapy in combination, since cell death ligands expressed in the immune system cells (NK, T, macrophage) may bind more effectively to activated death receptors of senescent tumor cells.



PS – 039 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Meme Kanserine Usnik Asit Uygulaması ile Oluşan miRNA İfade Seviyelerinin qRT-PCR ile Belirlenmesi

Ümmügülsüm Tanman Zıplar, Sevcan Yangın, Demet Cansaran Duman

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Tandogan, Ankara, Türkiye

Usnik asit, liken türlerinden elde edilen sekonder metabolitlerden biridir. Usnik asit kanser tedavisinde umut verici alternatif bir ilaç molekülüdür. Doğada bol bulunan likenlerden elde edilmesi kolay, küçük molekül yapısı, kanser hücreleri üzerinde anti-proliferatif etkisi, az toksisitesi ve karmaşık olmayan bir kimyasal yapısı usnik asitin tedavide kullanılma avantajları arasında yer almaktadır. Meme kanserlerinin tanı, prognozu ve tedavisinde birçok gelişme sağlanmış olmasına rağmen, ilaç direnci ve ilaç toksisitesi gibi bazı faktörler nedeniyle bu tür tedavilerin etkinliği hala sınırlıdır. Yıllar boyunca yapılan birçok araştırma, miRNA'ların meme kanserleri de dahil olmak üzere insanlarda birçok hastalığın tedavisinde kritik rol oynadığını göstermiştir.

Bu çalışmada, meme kanseri hücrelerinde usnik asit uygulaması sonrası miRNA'ların ifade seviyelerinde ki farklılaşmayı qRT-PCR ile belirlenmesi ve meme kanseri tedavisi için yeni bir hedef belirlenebilmesi amaçlanmıştır. 11 adet usnik aside duyarlı miRNA'nın (miR-5006-5p, miR-892c-3p, miR-4430, miR-5194, miR-3198, miR-3171, miR-933, miR-185-3p, miR-5194, miR-3198, miR-3171) meme kanseri hücrelerinde ifade seviyeleri hakkında detaylı bilgi sağlayan ilk çalışma olmuştur. Bu çalışmada, farklı biyoinformatik araçlar kullanılarak, usnik aside özgü miRNA'ların hastalık ile ilişkisi, yolak analizi, bu yollardaki genlerin ontoloji analizi, gen hedefleri ve miRNA-hedef gen etkileşimleri belirlenmiştir. Biyoinformatik ve qRT-PCR analizleri sonucu elde edilen verileri doğrulamak için, MCF-7 hücre hattında miR-185-3p'nin hücre canlılığı ve apoptoz analizi yapılmıştır.

qRT-PCR analizleri ve yolak analizi sonuçlarına göre, usnik aside duyarlı miRNA'ların farklı biyolojik süreçlerde önemli bir düzenleyici olduğu belirlenmiştir. Meme kanseri hastalığında usnik asite cevap veren miRNA'ların tanı ve tedavi den belirteç olabileceğidir.

Determination of miRNA Expression Levels by qRT-PCR after the Application of Usnic Acid to Breast Cancer

Ümmügülsüm Tanman Zıplar, Sevcan Yangın, Demet Cansaran Duman

Ankara University, Biotechnology Institute, Tandogan, Ankara, Turkey

Usnic acid is one of the secondary metabolites extracted from lichen species. It is a promising alternative drug candidate molecule in cancer treatment because it is easy to extract from lichens which are abundant in the nature and it has small molecules, an anti-proliferative effect on cancer cells, little toxicity and a non-complex chemical structure. Although many advances have been made in the diagnosis, prognosis and treatment of breast cancers, the efficacy of such treatments is still limited due to certain factors such as drug resistance and drug toxicity. Many studies over the years have demonstrated that miRNAs play critical roles in the treatment of many diseases in humans, including breast cancers.

In this study, we aimed to investigate the changes in the expression levels of usnic acid responses of miRNAs in breast cancer cells by qRT-PCR and provide a new target for the treatment of breast cancer. This has been the first study ever that provides detailed information on the expression levels of eleven usnic acid responsive miRNAs (miR-5006-5p, miR-892c-3p, miR-4430, miR-5194, miR-3198, miR-3171, miR-933, miR-185-3p, miR-5194, miR-3198, miR-3171) in breast cancer cells. In this study, using different bioinformatics tools, the association of usnic acid-specific miRNAs with the disease, pathway analysis, ontology analysis of genes in these pathways, gene targets, validations and miRNA-target gene interactions were determined. To confirm the results obtained by bioinformatics and qRT-PCR, we performed MTT assay and apoptosis analysis using hsa-miR-185-3p, one of the miRNAs identified with a different expression level in the MCF-7 cell line.

The results of qRT-PCR analyses and pathway analysis offers an important regulatory aspect of usnic acid responsive miRNAs in different biological processes. We suggest that usnic acid response miRNAs might be valuable clinical markers of diagnosis and therapeutic targets for breast cancer.



PS – 040 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Melatoninin Antioksidan Etkisinin Kronik Myeloid Lösemi Hücre Hattı Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi

Nazlı Karagöz Can¹, Bilgehan Can², Jale Kılınç²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD. Muğla.

²Hacı Ömer Tarman Anadolu Lisesi Ankara.

Amaç: Kronik Miyeloid Lösemi (KML), farklılaşmanın tüm aşamalarında miyeloid seri hücrelerinin artışı ile ortaya çıkan klonal bir hematopoetik kök hücre hastalığıdır. KML tüm lösemilerin %20'sini oluşturur. Melatonin ilk olarak ineklerin beyin epifizinde keşfedilen ve 70 li yıllarda antioksidan aktivitesi bulunan bir nörohormon olup antioksidan aktivite göstermektedir.

Gereç-Yöntem: Çalışma için KLM hücre hattı K562 hücreleri laboratuvar ortamında çoğaltıldı ve sayımı yapıldı. Biz bu çalışma ile melatonin antioksidan etkisini yetişkin kronik miyeloid lösemi üzerine etkisini hücre kültüründe K562 hücre hattı üzerinde incelemeyi amaçladık. Çalışmada, 3 grup oluşturduk.

1. Kontrol Grubu saf hücre kültürünün pasajlandığı grup
2. Sham Grubu, ortama melatonin eklenmeden tedavi grubu için uygulanan protokolün uygulandığı grup
3. Tedavi Grubupları. Tedavi grupları için 6 ayrı besi yeri hazırlanarak K562 hücre hattı ekimi yapıldı ve 100mg/ml, 10mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,01 mg/ml konsantrasyonlarda melatonin eklendi. 48 saat içerisinde 6 saat ara ile sayımı yapılan hücre grupları değerlendirilerek kayıt altına alındı.

Bulgular: K562 hücre hatları üzerinde melatoninin antioksidan etkisini incelediğimiz çalışmamızda kontrol grubu ile sham grubunu karşılaştırdığımızda veriler birbirine benzer aralıkta idi. Bu çalışmada elde edilen verilere göre hücrelerin en fazla 100 mg/ml grubunda çoğaldığı gözlemlendi. Hücre hatları üzerine eklediğimiz melatonin değerleri arttıkça K562 hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Biz bu çalışma ile dünyada ve ülkemizde yaygın olarak gözlenen KML üzerine melatonin etkisini araştırmayı amaçladık.

Sonuç: Çalışmamız daha önceki yapılan çalışmalardan farklı olarak K562 hücre hattında kanser hücre sayılarının arttığını gösterir nitelikteydi. Çalışmamızın daha kapsamlı çalışma grupları ile ve farklı moleküler teknikler kullanılarak geliştirilmesinin daha aydınlatıcı sonuçlar vereceği kanaatindeyiz.

Investigation Of The Effects Of Melatonin Antioxidant Effect On K562 Cell Line

Nazlı Karagöz Can¹, Bilgehan Can², Jale Kılınç²

¹Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology. Muğla.

²Hacı Ömer Tarman Anatolian High School

Objective: Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a clonal hematopoietic stem cell disease caused by the increase of myeloid serial cells at all stages of differentiation. CML accounts for 20% of all leukemias. Melatonin was first discovered in the brain epiphysis of cows. Melatonin is a neurohormone. antioxidant activity was found in the 70s.

Materials-Methods: KLM cell line K562 cells were grown in vitro and counted. We aimed to investigate the effect of melatonin antioxidant effect on adult chronic myeloid leukemia on K562 cell line in cell culture. We formed three groups.

1. Contor Group: pure cell culture passaged group
2. Sham Group: the group in which the protocol for the treatment group is applied without adding melatonin to the medium.
3. Treatment Groups: K562 cell line was cultivated and melatonin at concentrations of 100mg/ml, 10mg/ml, 0.1mg/ml, 0.01mg/ml was added.

The cell groups that were counted at 6 hours intervals within 48 hours were evaluated and recorded.

Results: When we compared the antioxidant effect of melatonin on K562 cell lines, when we compared the control and sham groups, the data were in similar range. According to the data obtained in this study, it was observed that the cells proliferated in maximum 100 mg/ml group. In this study, we aimed to investigate the effect of melatonin on CML which is widely observed in the world and in our country.

Conclusion: Unlike previous studies, our study showed an increase in the number of cancer cells. We believe that the development of our study with more comprehensive working groups and using different molecular techniques will provide more enlightening results.

Çalışmamız 4006 Bilim Fuarı Destekleme Projesi kapsamında yapılmıştır. Çalışma Gülhane Askeri Tıp Akademisi Eczacılık Fakültesi Hücre kültürü laboratuvarı ekipmanları kullanılarak yapılmıştır.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 041 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Baş- boyun kanserli hastalarda potasyum kanal düzenleyici geninin araştırılması

Aslı Karacan¹, Hakkı Caner İnan², Ayşe Nur Buyru³

¹*Istanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

²*Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Kulak, Burun, Boğaz Anabilim Dalı, İstanbul*

³*Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Hücre çoğalması, büyümesi ve ölümü gibi hücrenin yaşamsal olaylarında rol oynayan iyon kanalları proteinlerini kodlayan genlerde meydana değişimler kanser gelişim sürecinde oldukça önemlidir. İyon kanalları sınıfında yer alan voltaj kapılı potasyum kanalı proteinlerine benzer özellikte proteinler kodlayan KCTD (Potassium Channel Tetramerization Domain) gen ailesinin bir üyesi olan ve hücreyi apoptoza yönlendirmekle görevli KCNRG geni, 13q14 kromozomal bölgesinde yer alır. İki farklı protein kodlamakta olup, bu proteinler hücre içerisindeki potasyum akımını baskılamakla görevlidir. KCNRG şimdiye kadar kronik lenfositik lösemi, B hücreli kronik lenfositik lösemi, prostat kanseri, hepatosellüler karsinom, gastrointestinal tümör ve multipl myelom da tümör baskılayıcı gen olarak işlev gördüğü öne sürülmüştür. Ancak genin baş ve boyun kanserine olan etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada KCNRG geninin baş ve boyun kanserlerindeki yeri ve önemini anlamak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda 48 baş ve boyun kanserli hastaya ait tümör ve normal doku örneklerinde Gerçek Zamanlı PZT yöntemi kullanılarak hedef KCNRG geni ve kontrol G6PD geninin ifade analizi yapılmış ve elde edilen sonuçlar 2-ΔΔCt yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Tümör doku örneklerinin %83'ünde KCNRG gen ifadesinin normale göre azalmış olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar klinik veriler ile karşılaştırılmış ve KCNRG geni ifadesi ile klinik veriler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Sonuç: KCNRG gen ifadesinde tespit edilen bu azalma, KCNRG'nin diğer kanser türlerinde de olduğu gibi tümör baskılayıcı bir gen olduğunu destekler nitelikte olup, bu gendeki genetik ve epigenetik değişiklikler baş ve boyun kanserlerindeki önemli bir rol oynuyor olabilir.

Investigation of potassium channel regulator gene in head and neck cancer

Aslı Karacan¹, Hakkı Caner İnan², Ayşe Nur Buyru³

¹*Istanbul University Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Genetics Department, Istanbul*

²*Istanbul University Cerrahpaşa, Ear, Nose, Throat Department, Istanbul*

³*Istanbul University Cerrahpaşa, Medical Biology Department, Istanbul*

Objective: KCNRG gene, which leads the cell to apoptosis, is a member of KCTD (potassium channel tetramerization domain) gene family that encodes proteins similar to voltage gated potassium channel proteins, and is located on 13q14. It encodes two different proteins which suppress the potassium flow in the cell. KCNRG has been studied in various cancer types such as chronic lymphocytic leukemia, B cell chronic lymphocytic leukemia, prostate cancer, hepatocellular carcinoma, gastrointestinal tumor and multiple myeloma and has been suggested to function as a tumor suppressor gene. However, there are no studies showing the effect of the gene on head and neck cancer.

Materials-Methods: We investigated the expression levels of KCNRG and G6PD genes in tumor and corresponding non-cancerous tissue samples of 48 patients with head and neck cancer by Real Time PCR method. The results were analyzed using the 2-ΔΔCt method.

Results: The expression levels of KCNRG gene were decreased in %83 of tumor tissue samples comparing to normal tissues. The results were compared with clinical parameters, but there was no association between KCNRG gene expression and clinical characteristics.

Conclusion: This decrease in KCNRG expression supports the fact that KCNRG is a tumor suppressor gene as in other cancer types and genetic and epigenetic variations of this gene may play important roles in head and neck cancers.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 042 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Metformin ve pioglitazon kombinasyonu anaplastik tiroid kanseri hücrelerinde DDIT4, HIF1A ve PRKCA genlerinin regülasyonu ile apoptozu indükler

Nilufer Özdemir Kutbay¹, Mehmet Erdoğan², Banu Sarer Yürekli², Cansu Çalışkan Kurt³, Cumhuriyet Gündüz³, Çığır Biray Avcı³

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Manisa

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Anaplastik tiroid kanseri nadir görülen bir tümördür ancak tiroid tümörlerinden kaynaklanan ölümlerin %50'sinden fazlasını oluşturur. Bu malignitenin nadirliği ve hızlı büyümesi, etkili tedaviler bulunmasında kısıtlayıcı olmaktadır. Bu nedenle yeni terapötik tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. PPAR- γ agonisti pioglitazon (PIO), diabetes mellitus tip2'nin tedavisinde kullanılır. PPAR- γ agonistleri çeşitli kanserlere karşı in-vitro ve in-vivo olarak anti-tümör aktiviteleri göstermiştir. Metformin (MET) anti-hiperglisemik ajandır ve tip2 diyabet tedavisinde kullanılır. Farklı çalışmalar ile birçok kanserde anti-kanser potansiyeli gösterilmiştir. Çalışmamızda metformin ve pioglitazonun kombinasyonunun, insan anaplastik tiroid kanser hücre-hattında AMPK/mTOR sinyal-yolağı ve apoptoz üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda C643 ve SW-1736 hücrelerine 24,48,72saat boyunca belirli doz-aralıklarında uygulanan MET ve PIO etken maddelerinin ayrı-ayrı ve kombinasyon olarak hücrelerdeki zaman ve doz-bağımlı sitotoksitesi WST-1 testiyle belirlendi. İlaçların kombinasyonunun uygun dozlarını, etkilerini belirlemek amacıyla izobologram analizi yapıldı. Etken maddelerin apoptotik etkileri Annexin V ile, gen ekspresyonundaki etkisi RT-qPCR kullanılarak gerçekleştirildi.

C643 ve SW1736 hücre hatlarında MET'in ve PIO'nun zamana ve doza-bağılı IC₅₀dozu sırasıyla 48.saate 17,69mM ve 72.saate 11,64mM ve 72.saate 27,12 μ M ve 23,17 μ M olarak belirlendi. MET+PIO kombinasyonu her iki hücre için edektif olarak bulundu ve CI değerleri sırasıyla 10,65mM MET ve 6,81 μ M PIO ve ED50 16,26mM MET ve 11,7 μ M PIO olarak belirlendi. Annexin V sonuçlarına göre, iki etken maddenin IC50dozlarının ve kombinasyonlarının apoptozu arttırdığı gözlemlendi. Gen ekspresyon sonuçlarına göre; MET,PIO ve MET+PIO farklı onkogen ve tümör-süpresör genlerin ekspresyonunda değişikliğe neden olmuştur. Özellikle iki hücre hattında MET+PIO kombinasyonu tümör-süpresör DDIT4 gen ekspresyonunu 3,72 ve 2,56kat arttırmıştır. Onkogen HIF1A ve PRKCA genlerinin ekspresyonu ise C643 hücrelerinde PIO ile 9,97 ve 6,62kat, SW-1736 hücrelerinde MET ile 3,44 ve 2,05kat ve MET+PIO ile 2,96 ve 2,51kat azalmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlar ışığında ekspresyonları değişen genlerin büyüme, çoğalma, otofaji, hücre adezyonu, hücre transformasyonu ve hücre döngüsü kontrol noktası gibi önemli hücrel süreçlerde rol oynuyor olması bu teraöpatik ajanların tiroid kanserinde yeni hedef moleküller

olabileceğini ve tedaviye yardımcı olabileceğini düşünmemize neden olmaktadır.

The combination of metformin and pioglitazone induces apoptosis via regulation of the DDIT4, HIF1A and PRKCA genes in anaplastic thyroid cancer cells

Nilufer Özdemir Kutbay¹, Mehmet Erdoğan², Banu Sarer Yürekli², Cansu Çalışkan Kurt³, Cumhuriyet Gündüz³, Çığır Biray Avcı³

¹Department of Endocrinology and Metabolism, Celal Bayar University Faculty of Medicine, Manisa, Turkey

²Department of Endocrinology and Metabolism, Ege University Faculty of Medicine, İzmir, Turkey

³Department of Medical Biology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir, Turkey

Anaplastic thyroid cancer is a rare tumor but accounts for more than 50% of deaths arising from thyroid tumors. The rarity and rapid growth of this malignancy is limiting in finding effective treatments. There is therefore a need for new therapeutic-treatments. The PPAR- γ agonist pioglitazone (PIO) is used in the treatment of diabetes mellitus type-2. Metformin (MET) is an anti-hyperglycemic agent and is used to treat type-2 diabetes. The anti-cancer potential of metformin-pioglitazone in many cancers has been demonstrated by different studies. The aim of study was to evaluate the effects of metformin-pioglitazone on AMPK/mTOR signaling-pathway and apoptosis in human anaplastic thyroid cancer cell-line.

In our study, WST-1 test was used to determine the time and dose-dependent cytotoxicity of MET and PIO active substances separately and in combination in C643 and SW-1736-cells for 24,48,72hours. Isobologram analysis was performed to determine the appropriate doses and effects of the combination of drugs. Apoptotic-effects of the substances and their effect on gene-expression were carried out using Annexin V and RT-qPCR.

In C643 and SW1736-cells, the time and dose-dependent IC₅₀dose of MET and PIO were determined as 17.69mM and 11.64mM, and 27.12 μ M and 23.17 μ M, respectively. The MET+PIO combination was determined as additive for both-cells. Both of the compounds induce apoptosis separate or in combination. MET,PIO,MET+PIO caused changes in the expression of different oncogen and tumor-suppressor genes. DDIT4 gene-expression upregulated 3.72 and 2.56fold with MET+PIO in two cell-lines. HIF1A and PRKCA genes-expression downregulated 9.97 and 6.62fold with PIO in C643-cells, 3.44 and 2.05fold with MET and 2.96 and 2.51fold with MET+PIO in SW-1736-cells.

According to the results, genes whose expression is changed play a role in important cellular processes such as growth, proliferation, autophagy, cell adhesion, cell transformation and cell cycle control point. We think that these therapopathic agents is a novel molecular treatment approach for thyroid cancer.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 044 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Stauprimide ve DZNep ajan kombinasyonunun meme kanseri hücre hatlarında üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırılması

Çağlar Celebi¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹, Aycan Aşık¹, Röya Gasımlı¹, Eda Tayfur¹, Sunde Yılmaz Süslüer¹, Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İzmir
²Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, KKTC

Amaç: Terapötik hedef olarak stauprimide embriyonik kök hücrelerde NME / NM23 nükleosit difosfat kinaz 2 (NME2) nükleer lokalizasyonunu inhibe ederek c-MYC ekspresyonunu baskılar. DZNep (3-Deazaneplanocin-A) ise EZH2 (Enhancer of zeste homolog 2) yolağında H3K27me3'nü inhibe etmektedir.

Stauprimide ile DZNep kombinasyonunun triple negatif meme kanser hücre hattı MDA-MB-231, lümenal A meme kanser hücre hattı MCF-7 ve normal meme epiteli MCF-10A hücre hatları üzerindeki antiproliferatif ve sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF-10A meme kanser hücre hattı kullanılmıştır. Stauprimide ve DZNep ajanının hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi- xCELLigence (RTCA-SP) sistemi ile belirlendi. CalcuSyn yazılımında IC50 ve izobologram analizi ile CI (kombinasyon indeksi) dozları saptandı.

Bulgular: Stauprimide'in 72. saatte MDA-MB-231 için IC50 2,74 µM, DZNep'in 182,75 µM, 1:1 oranındaki ajan kombinasyonunun ED50 0,33 µM ve CI (kombinasyon indeksi) 0,134 güçlü sinerjizm, MCF-7 için 72. saatte Stauprimide IC50 2,07 µM, DZNep IC50 115,0 µM, 1:1 oranındaki ajan kombinasyonunun ED50 1,37 µM ve CI 0,671 sinerjizm, MCF-10A için 72. saatte Stauprimide IC50 19,9 µM, DZNep 108,6 µM, 1:1 oranındaki ajan kombinasyonunun ED50 7,9 µM ve CI 0,470 sinerjizm olarak saptandı.

Sonuç: Sağlıklı hücrelere zarar vermeden meme kanser hücrelerini hedefleme potansiyeli açısından umut vericidir. İn-vivo ve faz çalışmalarının ardından kullanılacak olan kombine teröpatik tedavilerde fayda sağlanacağı ön görülmektedir.

Investigation of the cytotoxic effects combination of stauprimide and DZNep agents in breast cancer cell lines

Çağlar Celebi¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹, Aycan Aşık¹, Röya Gasımlı¹, Eda Tayfur¹, Sunde Yılmaz Süslüer¹, Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege University, Medical Faculty Department of Medical Biology, İzmir

²Near East University Vocational School of Health Services, Turkish Republic of Northern Cyprus

Objective: As a therapeutic target, stauprimide inhibits c-MYC expression by inhibiting nuclear localization of NME / NM23 nucleoside diphosphate kinase 2 (NME2) in embryonic stem cells. DZNep (3-Deazaneplanocin-A) inhibits H3K27me3 in the EZH2 (Enhancer of zeste homolog 2) pathway.

The aim of this study was to investigate the antiproliferative and cytotoxic effects by providing combination of Stauprimide and DZNep in triple negative breast cancer cell line MDA-MB-231, luminal A breast cancer cell line MCF-7 and normal breast epithelium MCF-10A cell lines.

Materials-Methods: MCF-7, MDA-MB-231 and MCF-10A cell lines were used in the study. The cytotoxic effects of Stauprimide and DZNep on cell lines were determined by the Real Time Cell Analysis System- xCELLigence (RTCA-SP) system. IC50, ED50 and CI (combination index) doses were determined in CalcuSyn software with isobologram analysis.

Results: Doses effects was detected at 72 h for MDA-MB-231 cell line the IC50 doses of agents Stauprimide 2.74 µM, DZNep 182.75 µM, the combination of agents 1:1 ratio ED50 0.33 µM and CI (combination index) 0.134 strong synergism, for MCF-7 cell line the IC50 doses of agent Stauprimide 2.07 µM, DZNep 115.0 µM, the combination of agents 1:1 ratio ED50 1.37 µM and CI 0,671 synergism, for MCF-10A cell line the IC50 doses of agents Stauprimide 19.9 µM, DZNep 108.6 µM, the combination of agents 1:1 ratio ED50 7.9 µM and CI 0.470 synergism.

Conclusion: It is promising in terms of its potential to target breast cancer cells without hazard healthy cells. It is predicted to be beneficial in combined therapeutic therapies to can be used after in vivo and phase studies.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 046 POSTER BİLDİRİ / KANSER

U87MG Glioma Hücre Hattında HIF-1 α İnhibitörü KC7F2'nin Glikoliz Metabolizması Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi

Zaka Abbaszade, N Pınar Özateş, Vahidreza Karamad,
Bakiye Göker Bağca, Cansu Çalışkan Kurt, Ali Haydar
Kaygusuz, Fatma Söğütü, Selin Çeşmeli, Alican
Kuşoğlu, Cumhur Gündüz, Çığır Biray Avcı

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

Amaç: Glioblastoma multiforme erişkinlerde en sık görülen, asidofilik sitoplazmaya ve belirsiz hücre sınırlara sahip poligonal yapıda malign primer beyin tümörüdür. Glioblastoma multiforme, yüksek proliferatif aktivite ile karakterizedir. Kan-beyin bariyeri Glioblastoma tedavisini daha da zorlaştırır ve hipoksik bölgelerde bulunan tümör hücreleri radyoterapiye dirençlidir. Kanser hücrelerinde metabolik değişiklikler çok yönlüdür ve aerobik glikoliz sonucu biyosentetik ara maddelerin oluşumu artarak hücre büyümesi ve çoğalması için zemin oluşturur. Bu prosesin gerçekleşmesinde Hipoksi ile indüklenebilir Faktör (HIF) özellikle büyük öneme sahiptir. Seahorse XFp teknolojisi, hücrelerde iki ana enerji üretim yolu, mitokondriyal solunum ve glikolizi aynı anda ölçebilme kapasitesine sahip bir yöntemdir. Çalışmamızda HIF-1 α inhibitörü olan KC7F2 etken maddesinin U87MG Glioblastom hücre hattı üzerindeki metabolik etkilerini ve glikolitik yolak üzerindeki etkisini araştırmak hedeflenmiştir.

Gereç – Yöntem: Bu çalışmada U87MG hücre hattında KC7F2 etken maddesinin 72. saatteki IC50 dozunun metabolizması üzerindeki etkisini belirlemek için Seahorse XFp Hücre Enerji Fenotipi Testi uygulanmıştır. Hem metabolik hem de ekspresyon üzerindeki etkilerini belirlemek için daha önceki çalışmamızda bulduğumuz KC7F2'nin IC50 değeri U87MG hücrelerine uygulanmıştır.

Belirlenen metabolik etkilerin glikoliz metabolizması üzerindeki moleküler seviyede değişikliklerle ilişkilendirilebilmesi için PYGL, ALDOC ve PRPS1 genlerinin ekspresyon seviyesindeki değişiklikler Real-time RT-PCR yöntemi ile belirlenmiştir.

Bulgular: KC7F2 uygulaması metabolizma profilini glikolitik solunumdan mitokondriyal solunuma doğru yer değiştirmesini sağlamıştır.

PRPS1. Fosforibosilpirofosfat sentetaz 1 (PRPS1), adenosin trifosfat (ATP) ve riboz-5-fosfat'tan (R5P) fosforibosilpirofosfat (PRPP) sentezlemek için nükleotid biyosentezindeki ilk basamağı katalize eden bir enzimdir. PYGL. PYGL Glikojen fosforilaz (GP) enziminin üç izoformundan biridir.

ALDOC. Aldolaz ailesinin 3 üyesinden biridir ve esasen beyinde bulunur.

Sonuç: Kanser hücreleri için metabolik mekanizmanın kanserleşme sürecinde büyük öneme sahip olduğu Warburg tarafından ortaya çıkarılmıştır. Çalışmamızda

hücrelere KC7F2 uygulanarak hem metabolizma hem de 3 farklı metabolizma yolak geni üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmadan elde edilmiş verilerin bu konuda yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunacağını düşündürmektedir.

Evaluating the effect of KC7F2, the HIF-1 α inhibitor, on glucose metabolism in U87MG glioma cell line

Zaka Abbaszade, N Pınar Özateş, Vahidreza Karamad,
Bakiye Göker Bağca, Cansu Çalışkan Kurt, Ali Haydar
Kaygusuz, Fatma Söğütü, Selin Çeşmeli, Alican
Kuşoğlu, Cumhur Gündüz, Çığır Biray Avcı

Department of medical biology, medicine school, Ege university

Objective: Glioblastoma multiforme is the most common malignant primary brain tumor. providing the basis for cell growth and proliferation. Hypoxia-inducible Factor (HIF) is particularly important in the realization of this process. Seahorse XFp technology is capable of measuring two main energy production pathways, mitochondrial respiration and glycolysis simultaneously. In this study, we aimed to investigate the metabolic effects of KIF7 active agent HIF-1 α inhibitor on U87MG Glioblastoma cell line and its effect on glycolytic pathway.

Material-Methods: In this study, Seahorse XFp Cell Energy Phenotype Test was applied to determine the effect of KC7F2 on metabolism of IC50 dose at 72h in U87MG cell line.

To determine its effects on both metabolism and expression, the IC50 of KC7F2, which we found in our previous study, was applied to U87MG cells.

In order to correlate the metabolic effects with the changes in molecular level on glycolysis metabolism, changes on expression levels of PYGL, ALDOC and PRPS1 genes were determined by Real-time RT-PCR method.

Results: Application of KC7F2 has shifted the metabolism profile from glycolytic respiration to mitochondrial respiration.

PRPS1. Phosphoribosylpyrophosphate synthetase 1 (PRPS1) is an enzyme that catalyzes the first step in nucleotide biosynthesis to synthesize phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) from adenosine triphosphate (ATP) and ribose-5-phosphate (R5P). PYGL. PYGL is one of three isoforms of glycogen phosphorylase (GP).

ALDOC. Aldolaz is one of the 3 members of the family and is found mainly in the brain.

Conclusion: It was discovered by Warburg that the metabolic mechanism for cancer cells is of great importance in the process of cancer. In our study, KC7F2 was applied to the cells and its effect on both metabolism and 3 different metabolism pathway genes were investigated. It is suggested that the data obtained from this study will contribute to the studies to be conducted on this subject.



PS – 047 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Tiroid kanserli hastalarda VGLL3 geninin araştırılması

Ceren Orhan¹, Günay Galamiyeva¹, Soykan Arıkan², Nur Buyru¹

¹*Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı*

²*Istanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı*

Endokrin kanserler arasında sık görülen tiroid kanseri papiller tiroid kanseri, foliküler tiroid kanseri, medullar tiroid kanseri ve anaplastik tiroid kanseri olmak üzere 4 forma ayrılır. Tiroid tümörlerinin patogenezi ve moleküler mekanizması belirsizliğini halen korumaktadır. VGLL3 geni, VGLL (Vestigial-benzeri) gen ailesinin bir üyesi olup apoptozda, hücre bölünmesi ve göçünde rol oynar. Kromozomun 3p12.1 bölgesinde yerleşik olan VGLL3 geninin over ve prostat kanserlerinde tümör baskılayıcı olarak işlev gördüğü öne sürülmüştür. Bu amaçla, tiroid kanserli 49 hastada kantitatif polimeraz zincir tepkimesi yöntemi (GZ-PZT) ile VGLL3 geninin ifade düzeyi araştırıldı. Tiroid kanserinde de tümör baskılayıcı olarak işlev görebileceği düşünülerek ifade düzeyini araştırdığımız bu çalışma sonucunda VGLL3 geninin tümör dokularında normal dokuya kıyasla %57 azaldığını saptadık ($p=0,029$). VGLL3 geni ifade düzeyini klinikopatolojik parametreler ile de değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptayamadık. VGLL3 geninin ifadesinin azalması over ve prostat kanserlerinde olduğu gibi tiroid kanserinde de tümör baskılayıcı bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Investigation of VGLL3 gene in thyroid cancer

Ceren Orhan¹, Günay Galamiyeva¹, Soykan Arıkan², Nur Buyru¹

¹*Istanbul University Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Medical Biology*

²*Istanbul Training and Teaching Hospital, Department of General Surgery*

Thyroid cancer is the most common cancer among the endocrine cancers and it is divided into four forms: papillary thyroid cancer, follicular thyroid cancer, medullary thyroid cancer and anaplastic thyroid cancer. The pathogenesis and molecular mechanism of thyroid tumors are still unclear. VGLL3 gene is a member of the VGLL (Vestigial-Like) gene family which plays a role in apoptosis, cell proliferation and migration. The VGLL3 gene located in the 3p12.1 region of the chromosome has been proposed to act as a tumor suppressor gene in ovarian and prostate cancers. For this purpose, the expression level of VGLL3 gene was investigated by quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) method in 49 patients with thyroid cancer. As a result of this study, we investigated the expression level of thyroid cancer as a tumor suppressor and found that VGLL3 gene decreased 57% in tumor tissues compared to normal tissue ($p=0.029$). When we evaluated the expression level of VGLL3 gene with clinicopathological parameters, we did not find a statistically significant association. Down-regulation of the expression level of VGLL3 gene indicates that VGLL3 gene may play a tumor suppressor role in thyroid cancer as well as ovarian and prostate cancers.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 048 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Türk Pediatrik Akut Lenfoblastik Lösemi Vakalarında Philadelphia Benzeri Alt Grubun Tanımlanması

Ecem Efendi¹, Gülşah Çeçener¹, Birol Baytan², Havva Tezcan¹, Ufuk Ünal¹, Melike Sezgin Evim³, Ünal Egeli¹, Berrin Tunca¹, Adalet Meral Güneş³

¹Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AnaBilim Dalı, Bursa

²Emsey Hospital, Çocuk Hematoloji ve Onkolojisi, İstanbul

³Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Bursa

Philadelphia (Ph) benzeri akut lenfoblastik lösemi (ALL), B-hücreli ALL'de kötü prognosis ile ilerleyen son yıllarda tanımlanmış, yüksek risk sınıflamasında yer alan bir alt gruptur. Ph benzeri ALL vakalarının B-ALL'li hastalar arasından ayırt edilerek sınıflandırılabilmesi etkin tedavi almaları için önemlidir ve hastalık genetik olarak heterojendir. Ayrıca, etnik kökenleri farklı olan Ph benzeri ALL vakalarının genetik değişimleri de farklılık göstermektedir. Mevcut çalışmada; Ph benzeri ALL vakalarının tanımlanmasında kullanılacak Türk hastalarına özgü gen ifade panelinin oluşturulması amaçlanmaktadır. Yeni B-ALL tanılı, radyoterapi ve kemoterapi almamış, laboratuvar bulguları ve genetik-sitogenetik testleri gerçekleştirilmiş 23 hasta çalışmaya dahil edildi. İlgili hastalara ait kemik iliği materyalinden izole edilen RNA örneklerinden 384 kuyulu custom gen panelinde gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi kullanılarak gen ifade profilleri analiz edildi. Custom gen panelinde değerlendirilen 96 gen arasında 36 genin ifadesi, Ph pozitif kontrol örneğine benzerlik göstermektedir. Benzerlik frekansı en yüksek olan genler; *ETV6*, *RUNX1*, *IDH2*, *IRF8*, *P2RY8*, *PAG1*, *DNTT*, *NT5C2*'dir. Bu genlerin Ph benzeri ALL vakalarının tanımlanmasında biyobelirteç olabileceği öngörülmektedir. Bununla birlikte, değerlendirilen genler içerisinde 17 gende de istatistiksel anlamlılık elde edildi. Bu genlerden kontrol örneğine göre en fazla kat değişimi belirlenenler; *ABL2* ($p=0.044$) 8.8 kat, *PDGFR β* ($p=0.000$) 29.4 kat, *PAX5* ($p=0.011$) 3.7 kat, *JAK1* ($p=0.000$) 4 kat, *JAK2* ($p=0.006$) 3.5 kat down-regüle'dir. Mevcut çalışmada, pediatrik B-ALL'li hastalar arasında yer alan Ph benzeri alt gruba ait hastaların gen profillerinin belirlenmesi ile ön ayırıcı tanı gerçekleştirildi. Planlanan ek analizler ile; Türk hastalarına ait geliştirilen gen paneli analizleri ile tanımlanan Ph benzeri ALL alt grubun tedavi protokollerine hedefe yönelik tirozin kinaz inhibitörlerinin ilave edilmesi sağlanarak pediatrik Ph benzeri ALL hastalarında prognostun iyileştirilmesi ve sağkalım oranlarının yükseltilmesine katkı sağlanacaktır.

Identification of Philadelphia-Like Subgroup in Turkish Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Cases

Ecem Efendi¹, Gülşah Çeçener¹, Birol Baytan², Havva Tezcan¹, Ufuk Ünal¹, Melike Sezgin Evim³, Ünal Egeli¹, Berrin Tunca¹, Adalet Meral Güneş³

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Uludağ University, Bursa.

²Emsey Hospital, Pediatric Hematology and Oncology, Istanbul.

³Bursa Uludağ University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Hematology, Bursa.

Philadelphia (Ph)-like acute lymphoblastic leukemia (ALL) is an in recent years defined subgroup of B-cell ALL with poor prognosis. It is important that Ph-like ALL cases can be classified and differentiated from B-ALL patients to receive effective treatment and the disease is genetically heterogeneous. In the present study; It is aimed to establish a gene expression panel specific to Turkish patients to be used in the identification of Ph-like ALL cases. 23 patients with newly diagnosed B-ALL, who did not receive radiotherapy and chemotherapy and whose laboratory findings and genetic-cytogenetic tests were performed were included in the study. Gene expression profiles were analyzed by using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) method in 384-well custom gene panel from RNA samples isolated from bone marrow material of related patients. Of the 96 genes evaluated in the custom gene panel, the expression of 36 genes was similar to that of the Ph-positive control sample. Some of the genes with the highest frequency of similarity; *ETV6*, *RUNX1*, *IDH2*, *IRF8*, *P2RY8*, *PAG1*, *DNTT*, *NT5C2*. These genes are predicted to be biomarkers in the identification of Ph-like ALL cases. In addition to this, statistical significance was obtained in 17 genes among the evaluated genes. The expression levels of *ABL2*, *PDGFR β* , *PAX5*, *JAK1* and *JAK2* were found to be significantly down-regulated by 8.8-fold ($p=0.044$), 29.4-fold ($p=0.000$), 3.7-fold ($p=0.011$), 4-fold ($p=0.000$) and 3.5-fold ($p=0.006$) compared to control samples respectively. In the present study, a pre-differential diagnosis was made by determining the gene profiles of the Ph-like subgroup among the pediatric B-ALL patients. As a result of the planned additional analysis; adding targeted tyrosine kinase inhibitors to the treatment protocols of the Ph-like ALL subgroup defined by the gene panel of the Turkish population will contribute to improve the prognosis and increase survival rates.

Mevcut çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından OUAP(T)-2019/7 proje numarası ile desteklenmiştir.



PS – 049 POSTER BİLDİRİ / KANSER

***Olea europaea* Yaprak Özütünün (OLE) Glioblastoma Hücrelerinde Mezenkimal Geçiş Mekanizması Üzerindeki Etkisi**

Melis Mutlu, Berrin Tunca, Seçil Ak Aksoy, Çağla Tekin, Ünal Egeli, Gülşah Çeçener

Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,
Bursa

Vasküler proliferasyon ile karakterize olan Glioblastoma (GB), yetişkinlerde merkezi sinir sisteminde en sık görülen beyin tümörüdür. GB'lerin tedavisi cerrahi rezeksiyon, Temozolomid (TMZ) ile kemoterapi ve radyoterapi ile olmaktadır. Agresif seyreden GB'lerin göç yetenekleri yüksektir. Bu sebeple tümörün yayılımı ile ilişkili Epitelyal Mezenkimal Geçiş (EMT) belirteçlerinin inhibe edilmesi yönündeki yapılacak çalışmalar GB tedavisindeki başarıyı arttırabilecektir. Günümüzde birçok kanser türünde yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde bitkisel özütlere yararlanılmaktadır. Mevcut çalışmada daha önceki araştırmalar ile sitotoksik etkisi belirlenen *Olea europaea* yaprak özütünün (OLE) GB hücre hattı T98G hücrelerinde tek başına ve TMZ ile birlikte kombin kullanılmasıyla EMT belirteçleri; *Zeb1*, *E-cadherin* ve *N-cadherin* gen ekspresyonlarına olan etkilerinin belirlenmesi ve fonksiyonel olarak hücre kültüründe yara iyileşmesi deneyi ile validasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda, OLE'nin EMT belirteçlerine olan etkileri RT-PCR yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tek başına 2 mg/ml OLE ve 350µM TMZ ile muamele edilen hücrelerin, muamelesiz T98G hücreleri ile karşılaştırılmasında *Zeb1* ve *N-cadherin* gen ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi (2mg/mlOLE; -2.52 kat $p=0.015$, -5.23 kat $p=0.001$; 350µM TMZ; 6.49 kat $p=0.004$, -16.66 kat $p=0.001$). 2 mg/ml OLE+350 µM TMZ ile muamele edilen hücrelerde *Zeb1* ve *N-cadherin* genlerinin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, *E-cadherin* geninin ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (-1.42 kat $p=0.005$, -1.06 kat $p=0.000$, 21.26 kat $p=0.043$). Hücrelerin migrasyon özelliklerine olan etkisinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen yara iyileşme deneyinde, muamele edilmemiş T98G hücrelerinde 24 saatin sonunda %75 oranında kapanma gözlemlendi. 2 mg/ml OLE, 350 µM TMZ ve 2 mg/ml OLE+350µM TMZ ile muamele edilen hücrelerde ise sırasıyla; %8, %3 ve %3 oranda yara alanında artış belirlendi ($p<0.001$). Sonuç olarak tek başına OLE'nin EMT belirteçlerini inhibe ederek hücrelerin göç yeteneklerini tek başına TMZ'den daha fazla baskıladığı gösterilmiştir. Böylece çalışmanın sonucunda OLE'nin tek başına ve TMZ ile birlikte sinerjik etki oluşturarak tedavide kullanılabilecek potansiyel bir terapötik ajan olabileceği belirtilmiştir.

Effect of *Olea europaea* Leaf Extract (OLE) on Mesenchymal Transition Mechanism in Glioblastoma Cells

Melis Mutlu, Berrin Tunca, Seçil Ak Aksoy, Çağla Tekin, Ünal Egeli, Gülşah Çeçener

Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Department of
Medical Biology, Bursa

Glioblastoma (GB), characterized by vascular proliferation, is the most common brain tumor in the central nervous system in adults. Treatment of GBs consists of surgical resection, chemotherapy with Temozolomide (TMZ) and radiotherapy. Aggressive GBs have high migration ability. Therefore, studies on inhibiting epithelial mesenchymal transition (EMT) markers may increase the success of GB treatment. In recent years, herbal extracts have been used to determine new treatment methods for many cancer types. In the present study, we aimed to determine *Olea europaea* leaf extract (OLE) was used alone and in combination with TMZ the effects of EMT markers (*Zeb1*, *E-cadherin* and *N-cadherin*) on gene expression. For this purpose, the effects of OLE on EMT markers were realized by using RT-PCR method.

A statistically significant decrease in *Zeb1* and *N-cadherin* gene expression levels was detected treated with 2 mg/ml OLE and 350µM TMZ alone (2mg/ml OLE; -2.52-fold $p=0.015$, -5.23-fold $p=0.001$; 350µM TMZ; 6.49-fold $p=0.004$, -16.66-fold $p=0.001$). There was a statistically significant decrease in the expression levels of *Zeb1* and *N-cadherin* genes and a statistically significant increase in the expression level of *E-cadherin* gene in cells treated with 2mg/ml OLE+350µM TMZ (-1.42-fold $p=0.005$, -1.06-fold $p=0.000$, 21.26-fold $p=0.043$). In the wound healing experiment to determine the effect of cells on migration properties, 75% closure of untreated T98G cells was observed after 24 hours. In the cells treated with 2 mg / ml OLE, 350µM TMZ and 2 mg/ml OLE+350 TMZ, respectively; 8%, 3% and 3% increase in wound area was determined ($p<0.001$). As a result, it was shown that OLE alone inhibits EMT markers and suppresses the migration ability of cells more than TMZ alone. Thus, it has been shown that OLE can be a potential therapeutic agent to be used in treatment by alone and creating synergistic effects in combination with TMZ.

Mevcut çalışma yüksek lisans tez projemdir ve 118S799 numaralı TÜBİTAK 1002 projesi ile desteklenmiştir.



PS – 050 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Mide Kanserinde *Olea europaea* Yaprak Özütünün (OLE) Sitotoksik ve Antiinvaziv Etkisinin in-vitro Analizler ile Belirlenmesi

Çağla Tekin, Berrin Tunca, Seçil Ak Aksoy, Melis
Mutlu, Gülşah Çeçener, Ünal Egeli

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Bursa

Mide kanseri (Gastrik kanser; GK), dünyada en yaygın görülen gastrointestinal sistem kanserlerinden biridir. GK'nın 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık olarak %40'dır. Erken evre GK'larda yalnızca cerrahi rezeksiyon uygulanırken ileri evre GK'larda rezeksiyon sonrası radyoterapi ve kemoterapi önerilmektedir. Kemoterapi uygulaması hastalığın seyrini iyi yönde etkiliyor olsa da ileri evre GK hastalarında tedavi olumsuz sonuçlanabilmekte ve bu yüzden GK hastalarının yaşam süresinin kötü etkilemektedir. Çeşitli çalışmalarda kanser tedavisinde yeni protokollerinin geliştirilmesinde ve mevcut protokollerin daha efektif hale getirilmesinde sıklıkla bitki özütlerinden yararlanılmaktadır. Önceki çalışmalarımızda beyin tümörü hücrelerinde sitotoksik etkisini belirlediğimiz *Olea europaea* yaprağından elde edilen bitki özütünün (OLE), mevcut çalışmada GK hücrelerinde sitotoksik etkisinin belirlenmesi ve GK hücrelerinin göç yeteneklerine olan etkisinin tespit edilmesi amaçlanmaktadır. Bu kapsamda OLE'nin GK hücre hattı olan AGS hücrelerindeki sitotoksik etkisi hücre proliferasyon (WST-1) analizi ile göç yetenekleri üzerine etkisi ise hücre kültüründe yara iyileşmesi deneyi ile gerçekleştirildi. Anabilim Dalı'mızda daha önceki çalışmalarda belirlenen OLE dozları dikkate alınarak, WST-1 deneyleri için uygun konsantrasyon aralığı 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1 mg/ml, 1,5 mg/ml, 2 mg/ml, 2,5 mg/ml, 3 mg/ml belirlendi. OLE'nin 24. saatteki sitotoksik etkisi değerlendirildiğinde, 1 mg/ml OLE ile muamele edilen AGS hücrelerindeki canlılık oranı %56,61 olarak, 1,5 mg/ml OLE ile muamele edilen AGS hücrelerinde ise canlılık oranı %25,74 olarak belirlendi ($p<0.005$). OLE'nin etkin saati 24 saat, etkin dozu ise 1,5 mg/ml olarak belirlendi. Hücrelerin göç yetenekleri üzerine etkisinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen yara iyileşme deneyinde muamele edilmemiş AGS hücrelerinde 24 saatin sonunda %80 oranında kapanma gözlemlendi. 1 mg/ml OLE ile muamele edilen hücrelerde %14 oranda, 1,5 mg/ml OLE ile muamele edilen hücrelerde ise %21 oranında yara alanında artış gözlemlendi ($p<0.001$). Böylece, OLE'nin agresif seyreden GK tümörlerinin tedavisinde sitotoksik etkisi daha az ve daha efektif olarak kullanılabilecek terapötik bir hedef olabileceği gösterilmiştir.

Determination of Cytotoxic and Anti-invasive Effects of *Olea europaea* Leaf Extract (OLE) in Gastric Cancer Cells by In-vitro Analysis

Çağla Tekin, Berrin Tunca, Seçil Ak Aksoy, Melis
Mutlu, Gülşah Çeçener, Ünal Egeli

Uludağ University Faculty of Medicine, Department of Medical
Biology, Bursa

Gastric cancer (GC) is one of the most common gastrointestinal system cancers in the world. The 5-year survival rate of GC is approximately 40%. In various studies, plants are frequently used in the development of new protocols in cancer treatment and making existing protocols more effective. In our previous studies, the cytotoxic effect of plant extract obtained from *Olea europaea* leaf in brain tumor cells was determined. The aim of the present study was to determine the cytotoxic effect of GC cells and to determine the effect of GC cells on their migration ability. The cytotoxic effect of OLE on AGS cells, which is the GC cell line, was effected by cell proliferation (WST-1) analysis and the effect of migration on cell migration was performed by wound healing test in cell culture. The appropriate concentration range for WST-1 experiments is 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1 mg/ml, 1.5 mg/ml, 2 mg/ml, 2.5 mg/ml, 3 mg/ml was determined. When the cytotoxic effect of OLE at 24 hours was evaluated, the viability rate of AGS cells treated with 1 mg / ml OLE was 56.61%, and the viability rate of AGS cells treated with 1.5 mg/ml OLE was 25.74% ($p<0.005$). The effective time of OLE was 24 hours and the effective dose was 1.5 mg / ml. In the wound healing experiment to determine the effect on the migration ability of the cells, 80% closure was observed at the end of 24 hours in untreated AGS cells. In the cells treated with 1 mg/ml OLE and 1.5 mg/ml OLE respectively; 14% and 21% increase in wound area was determined ($p<0.001$). OLE has been shown to be an effective therapeutic target for the treatment of aggressive GC tumors.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 051 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Lokal ileri prostat kanserlerinde novel Speckle-type POZ protein (*SPOP*) mutasyonları

İşıl Ezgi Eryılmaz¹, Onur Kaygısız², Gülşah Çeçener¹,
Berna Aytaç Vuruşkan³, Ünal Egeli¹, Berrin Tunca¹,
Hakan Vuruşkan²

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Bursa

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim
Dalı, Bursa

³Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji
Anabilim Dalı, Bursa

Son yıllarda yapılan çalışmalar Speckle-type POZ protein (*SPOP*) genindeki mutasyonların prostat kanseri (PK)'nin yeni bir moleküler alt tipini karakterize ettiğini ortaya koymuştur. Fonksiyonel analizler, Cullin3-bazlı E3-ubikutin ligaz (Cul3) enziminin tanıma bileşenini kodlayan *SPOP*'un PK'da proliferasyon, invazyon ve migrasyon ilişkili hedefler üzerinde tümör supresif etki gösterdiğine işaret etmesine rağmen *SPOP* aktivitesini değiştiren mutasyonların PK'ndeki klinik etkileri bilinmemektedir. Bu nedenle son yıllarda çoklu etnik gruplarda *SPOP* mutasyon sıklıkları değerlendirilerek *SPOP*-mutant PK'nin klinik seyri araştırılmaktadır. Mevcut çalışmada Türk popülasyonundaki PK tanılı hastalarda *SPOP* mutasyonları ilk kez belirlendi ve hastaların klinikopatolojik özellikleri ile birlikte değerlendirildi. Çalışmaya laparoskopik radikal prostatektomi uygulanmış, patolojik evre 3 (pT3a-3b) PK tanılı, neoadjuvan veya adjuvan tedavi almamış 95 hasta dahil edildi. Hastaların prostatektomi materyallerindeki homojen tümör odaklarından DNA izolasyonu gerçekleştirilerek *SPOP* geninin kodlayan bölgeleri ve ekzon/intron bağlantıları heteroduplex analiz ve DNA dizi analizi ile değerlendirildi. Web bazlı *in silico* analiz sonuçlarına göre *SPOP*'un kodlama yapan bölgelerinde belirlenen 5 farklı varyasyondan 2'sinin (c.608G>A C203Y ve c.708C>A S236R) patojenik potansiyele sahip novel mutasyonlar olduğu tespit edildi. Mevcut hastalarda novel patojenik mutasyon oranı %3.2 (n=3) olarak belirlendi. Bir hastada (%1.05) ilgili iki mutasyon için birleşik heterozigotluk saptandı. Mutasyonların *SPOP* proteinin batı toplumlarında daha nadir rapor edilen Cul3 bağlanma bölgesinde (BTB domain) lokalize olduğu belirlendi. Mutasyon varlığı klinikopatolojik parametreler ve post-op biyokimyasal rekürrens ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmedi. Bulgularımız, *SPOP* mutasyonlarının lokalizasyon ve sıklığının etnik ve demografik farklılıklara bağlı değişim gösterebileceğini, hastaların uzun süreli takiplerinde belirlenen novel mutasyonlar ile birlikte klinik verilerin tekrar değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Novel Speckle-type POZ protein (*SPOP*) mutations in locally advanced prostate cancers

İşıl Ezgi Eryılmaz¹, Onur Kaygısız², Gülşah Çeçener¹,
Berna Aytaç Vuruşkan³, Ünal Egeli¹, Berrin Tunca¹,
Hakan Vuruşkan²

¹Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Department of
Medical Biology, Bursa

²Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Department of
Urology, Bursa

³Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Department of
Medical Pathology, Bursa

Recent studies have shown that mutations in the Speckle-type POZ protein (*SPOP*) gene characterizes a new molecular subtype of prostate cancer (PC). Although functional analyzes indicate that *SPOP*, which encodes the recognition component of the Cullin3-based E3-ubiquitin ligase (Cul3) enzyme, exhibits tumor suppressive effect on proliferation, invasion, and migration-related targets, clinical effects of the mutations that alter *SPOP* activity in PC is unknown. Therefore, the frequency of *SPOP* mutations in multiple ethnic groups has been determined and the clinical course of *SPOP*-mutant PC has been investigated in recent years. In the present study, *SPOP* mutations were identified for the first time in the patients diagnosed with PC in Turkish population and evaluated together with clinicopathological features. Ninety-five patients who underwent laparoscopic radical prostatectomy with pathological stage 3 (pT3a-3b) PC and without neoadjuvant or adjuvant therapy were included in the study. DNA isolation was performed from homogenous tumor foci in prostatectomy materials and then, all coding regions and exon/intron boundaries of *SPOP* were evaluated by heteroduplex and DNA sequence analysis. According to web-based *in silico* analysis results, 2 of the 5 different variations determined in the coding regions of *SPOP* (c.608G>A C203Y and c.708C>A S236R) were detected to be novel mutations with pathogenic potential. Novel pathogenic mutation prevalence was determined as 3.2% (n=3). In one patient (1.05%), compound heterozygosity was detected for two mutations. The identified mutations were found to be localized in the Cul3 binding region (BTB domain) of *SPOP*, which is rarely reported in Western populations. The presence of mutations was not associated with clinicopathological parameters or post-op biochemical recurrence. However, our findings suggest that localization and frequency of *SPOP* mutations may vary due to ethnical and demographical differences, the clinical data should be reevaluated with novel mutations determined in the long-term follow-up of the patients.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 072 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Pediyatrik glioblastomalarda TERT promotor bölge mutasyonları

Muhammet Nafi Civan¹, Melis Mutlu³, Çağla Tekin³, Seçkin Kaya², Mevlüt Özgür Taşkapılıoğlu², Seçil Ak Aksoy³, Berrin Tunca³, Gülşah Çeçener³, Ünal Egeli³

¹Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bursa

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Bursa

³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

Glioblastoma (GB) merkezi sinir sisteminin en sık görülen ve en malign tümörüdür. Glioblastomaların yaklaşık %75'inde telomeras ters transkriptaz (TERT) genindeki promotor bölge mutasyonları (C228T ve C250T) gözlenmektedir. TERT mutasyonları GB tümörlerinde kötü prognoz ve ilaç direnci ile ilişkilendirilmektedir. Yetişkin primer GB'lerde gerçekleştirdiğimiz önceki çalışmalarımızda, bu hastalarda, TERT promotor bölge mutasyonlarından C228T ve C250T mutasyonu %56 oranında belirlenmiş olup TERT mutasyonları kısa sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir ($p < 0.001$). TERT mutasyonlarının pediatrik beyin tümörlerindeki sıklıkları ve klinik anlamlılıkları ise bilinmemektedir. Çalışmamızda, oldukça nadir görülen ancak çocukluk çaının en agresif tümörü olan pediatrik GB'de TERT promotor bölge mutasyonlarının sıklığının ve prognostik öneminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, 2005-2018 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalında tanı alan ve tedavisi yine aynı merkezde devam ettirilen 9 pediatrik GB hastası değerlendirildi. Hastalara ait parafinize doku örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. Otomatik DNA dizi analizi yöntemi ile TERT promotor bölge mutasyonları analiz edildi (Beckman Coulter). Değerlendirilen hastaların %78'inde TERT C228T mutasyonu belirlenirken, hiçbir vakada C250T mutasyonu görülmedi. Bu mutasyonun varlığı kısa yaşam süresi ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili bulundu ($p < 0.001$).

Günümüzde GB hastalarına yaklaşım cerrahi rezeksiyonun ardından kemoterapi ve radyoterapinin kombinasyonu şeklinde olmaktadır. Kemoterapi ajanı olan temozolomid (TMZ) standart kemoterapi tedavisine ek olarak güncel vakalarda kullanılan tedavi seçeneğidir. Mevcut çalışmamızda da görüldüğü gibi genetik mekanizmalar pediatrik GB da da tedavi ve prognozda etkilidir. TMZ genetik faktörlerden dolayı hastalarda aynı etkiye sahip değildir. Pediatrik GB da tedavi yaklaşımı belirlenirken TERT mutasyonu varlığının araştırılması faydalı olacaktır.

Pediatrik GB'lerde TERT mutasyon oranı ilk kez bu çalışma ile gösterilmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda TERT promotor bölge mutasyonlarının pediatrik GB

hastalarında tedaviyi ve prognozu etkilediği belirlenmiştir.

TERT promoter region mutations in pediatric glioblastomas

Muhammet Nafi Civan¹, Melis Mutlu³, Çağla Tekin³, Seçkin Kaya², Mevlüt Özgür Taşkapılıoğlu², Seçil Ak Aksoy³, Berrin Tunca³, Gülşah Çeçener³, Ünal Egeli³

¹Faculty of Medicine, Uludag University, Bursa

²Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Uludag University, Bursa

³Medical Biology Department, Faculty of Medicine, Uludag University, Bursa

Glioblastoma (GB) is the most common malignant tumor of the central nerve. In approximately 75% of glioblastomas, promoter region mutations (C228T and C250T) in the telomerase reverse transcriptase (TERT) gene are as eye. TERT mutations are associated with poor prognosis and drug focus in GB tumors. We performed adult primary GBs, in our previous studies, on this page, the C228T and C250T mutations of the TERT promoter region mutations were 56%, while TERT mutations were performed with short survival. ($P < 0.001$). The incidence and clinical significance of TERT mutations in pediatric brain tumors is unknown. The aim of this study was to evaluate the frequency and prognostic significance of TERT promoter mutations in pediatric GB, which is the most aggressive tumor of childhood.

In this study, 9 pediatric GB patients were evaluated between 2005-2018 in Uludağ University Medical Faculty Department of Neurosurgery. DNA was isolated from paraffinized tissue isolations. TERT promoter region mutations were analyzed by automated DNA sequencing (Beckman Coulter).

78% of the TERT C228T mutation was determined; C250T mutation was not seen in any case. The presence of this mutation was found to be significantly associated with short survival ($p < 0.001$).

Today, the approach to GB patients is the combination of chemotherapy and radiotherapy following surgical resection. Temozolomide (TMZ), which is a chemotherapy agent, is a treatment option used in current cases in addition to standard chemotherapy treatment. As seen in our present study, genetic mechanisms are effective in treatment and prognosis in pediatric GB. TMZ does not have the same effect in patients due to genetic factors. When determining the treatment approach in pediatric GB, it will be useful to investigate the presence of TERT mutation.

In conclusion, in our study, it was determined that TERT promoter region mutations affect treatment and prognosis in pediatric GB patients.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 073 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Kolorektal kanserde bazı potansiyel biyobelirteç miRNA'ların pre-analitik değişkenlere karşı stabiliteilerinin incelenmesi

Murat Eser Akyürek, İsmail Benli, Merve Sağlam, Zeynep Demirtaş Şahin, Gökhan Tatlıpınar

Atlas Biyoteknoloji Tic. Ltd. Şti.

Bu araştırmada farklı saklama koşulları, çoklu dondur-çöz işlemi, fiziksel etki, RNase maruziyeti, RNase inhibitör yokluğu gibi bazı pre-analitik etkenlerin, kolorektal kanserde potansiyel biyobelirteçlerden bazıları olan miR-21, miR-34a, miR-148a ve miR-200c stabiliteilerinin üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Üç farklı flaskta kültüre edilmiş kolorektal kanser hücre hattından (HT-29) "GeneAll Hybrid-R miRNA" kiti kullanılarak miRNA izolasyonu yapıldı. miRNA örnekleri araştırılacak her farklı etken için 72 farklı tüpe bölündü. Örnekler, "saklama koşulları", "dondur-çöz işlemi", "fiziksel etki", "RNase etkisi" olarak dört gruba ayrıldı. Araştırılacak etkene göre örnekler +25, +4, -20 ve -80 °C sıcaklıklarda 1, 5 ve 10 gün bekletildi; -20 ve -80 °C'de 1, 5 ve 10 kere dondur-çöz yapıldı; 1, 5 ve 10 dakika vortekslendi; RNase maruziyetine bırakıldı. RNase inhibitör yokluğunun etkisi için ise hem cDNA sentez aşamasında hem de PCR aşamasında RNase inhibitör kullanılmadı. cDNA sentezi referans örnekler için izolasyondan hemen sonra, diğer örnekler için ise etkenler uygulandıktan hemen sonra yapıldı. miRNA analizi için SYBR-Green içeren "A.B.T.™ Single miRNA qPCR Assay" kit ve miRNA spesifik stem-loop primer kullanıldı. Real-Time PCR yöntemiyle her bir örnekten, üç tekrarlı olacak şekilde Ct değerleri tespit edildi. Referans örneğin Ct değeri ile diğer örneklerin Ct değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Elde edilen bulgulara göre miR-21'in +25 ve +4 °C'de 5 ve 10 gün, miR-200a'nın +25 °C'de 10 gün saklanması Ct değerini anlamlı şekilde artırmaktadır (P<0.05). miR-21'in -20 °C'de 5 ve 10 kere, -80 °C'de 10 kere ve miR-200c'nin -80 °C'de 5 ve 10 kere dondurulup çözülmesi Ct değerini anlamlı şekilde artırmaktadır (P<0.05). miR-200c'nin 10 dakika vortekslenmesi Ct değerini anlamlı şekilde artırmaktadır (P<0.05). RNase inhibitör kullanılmaması miR-21'in Ct değerini anlamlı şekilde artırmaktadır (P<0.05).

Sonuç olarak kolorektal kanser için potansiyel biyobelirteç miRNA'larla çalışırken miR-21 ve miR-200c için izolasyon sonrasında -20 veya -80 °C'de saklanması, mümkün olduğu kadar dondur-çöz işleminden sakınılması, RNase inhibitör kullanımına dikkat edilmesi gerektiği tespit edilmiştir.

Stability of some potential biomarker miRNAs against pre-analytical variables in colorectal cancer

Murat Eser Akyürek, İsmail Benli, Merve Sağlam, Zeynep Demirtaş Şahin, Gökhan Tatlıpınar

Atlas Biotechnologies Trade. Ltd. Co.

In this study, it was aimed to investigate the effect of some pre-analytical factors such as different storage conditions, multiple freeze-thaw process, physical effect, RNase exposure, absence of RNase inhibitor on the stability of miR-21, miR-34a, miR-148a and miR-200c which are some of the potential biomarkers in colorectal cancer.

miRNAs was isolated from the cultured colorectal cancer cell line (HT-29) in three different flasks using the "GeneAll Hybrid-R miRNA" kit. The samples were stored at +25, +4, -20 and -80 °C for 1, 5 and 10 days; freeze-thawed at -20 and -80 °C for 1, 5 and 10 times; vortexed for 1, 5 and 10 minutes; exposed to RNase. RNase inhibitor was not used for the effect of the absence of RNase inhibitor in both cDNA synthesis and PCR stages. cDNA synthesis was performed immediately after isolation for the reference samples and immediately after the application of the factors for the other samples. miRNA analysis was performed using the "A.B.T.™ Single miRNA qPCR Assay" kit containing SYBR-Green and miRNA-specific stem-loop primers. Ct values were determined with three replicates by Real-Time PCR method.

According to the findings, storage of miR-21 at +25 and +4 °C for 5 and 10 days and storage of miR-200a at +25 °C for 10 days; freezing-thawing of miR-21 (5 and 10 times at -20 °C, 10 times at -80 °C) and miR-200c (5 and 10 times at -80 °C); vortexing of miR-200c for 10 minutes significantly increases the Ct value. The absence of an RNase inhibitor significantly increases the Ct value of miR-21.

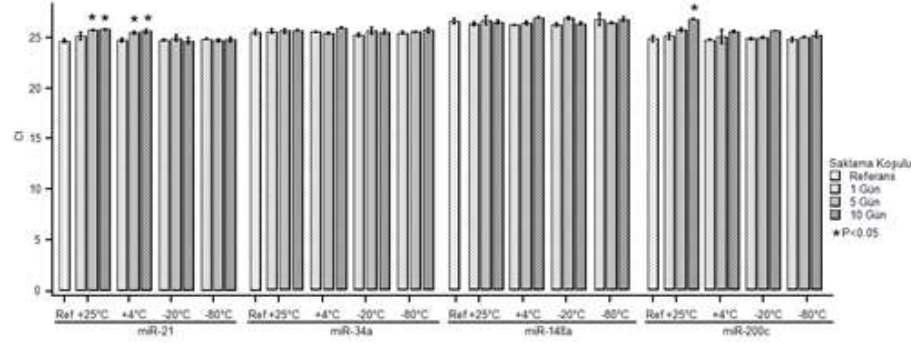
As a result, it was found that when working with potential biomarker miRNAs for colorectal cancer, miR-21 and miR-200c should be stored at -20 or -80 °C after isolation, avoiding freeze-thaw as much as possible, and should be considered use of RNase inhibitor.



PS – 073 POSTER BİLDİRİ / KANSER

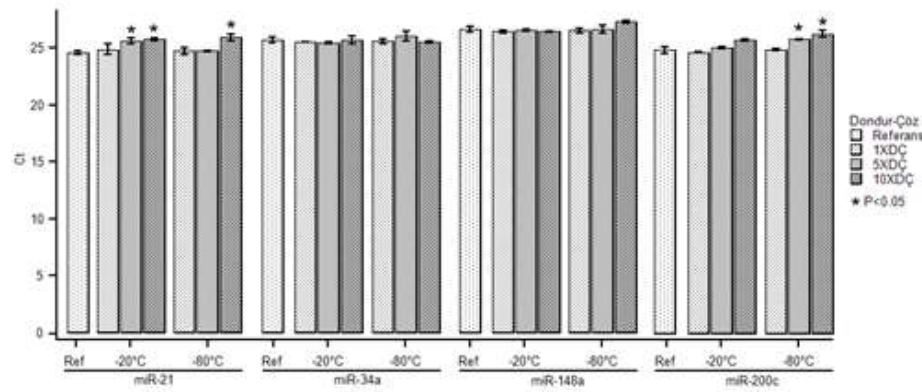
Şekil 1: Saklama koşullarının miRNA stabilitesi üzerine etkisi

Figure 1: Effect of storage conditions on miRNA stability



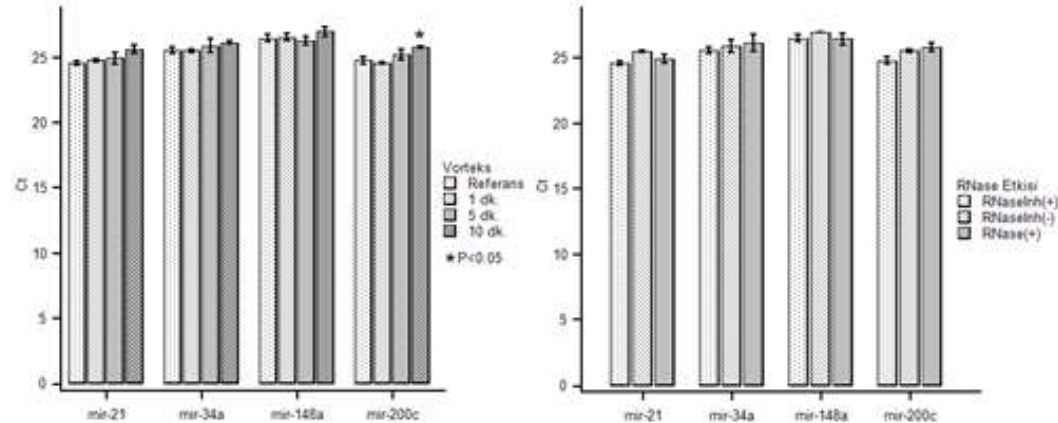
Şekil 2: Dondur çöz işleminin miRNA stabilitesi üzerine etkisi

Figure 2: Effect of freeze-thaw treatment on miRNA stability



Şekil 3: Vorteks ve RNase maruziyetinin miRNA stabilitesi üzerine etkisi

Figure 3: Effect of vortex and RNase exposure on miRNA stability





TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 076 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Primer Myelofibrozis Olgularında Sitogenetik ve JAK2 Mutasyon Sonuçları

Rahiye Dilhan Kuru¹, Ayşe Çırakoğlu¹, Şükriye Yılmaz¹, Başak Aslaneli Çakmak¹, Asuman Çelebi¹, Yelda Tarkan Argüden¹, Ahmet Emre Eşkazan², Teoman Soysal², Ayhan Deviren¹

¹*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Primer myelofibrozis (PMF) bir myeloproliferatif neoplazidir (MPN) ve ilerleyen kemik iliği fibrozisi ile birlikte anormal megakaryosit proliferasyonu ile karakterizedir. PMF olgularının %40'ında sitogenetik anomaliler gözlenir. PMF hastalarının yaklaşık %50'den fazlasında JAK2 V617F mutasyonu tespit edilir. Bu çalışmada Hematoloji servisinde birimimize refere edilen 7 PMF olgusuna ait sitogenetik ve JAK2 mutasyon sonuçları sunulmaktadır.

Gereç-Yöntem: Sitogenetik analizler için 3'ü erkek, 4'ü kadın, medyan yaşı 62 (39-82 aralığında) olan PMF hastalarının kemik iliği aspirasyon materyallerine over night ve 24 saatlik indüklenmemiş hücre kültürü yapılmıştır. Hazırlanan preparatlara GTL bantlama yapılarak, ışık mikroskopunda incelenmiş ve ISCN (2016)'ya göre değerlendirilmiştir. JAK2 mutasyonu Roche Monocolor HypeProbe Red 640 kullanılarak Light Cycler 480 II cihazında Melting Curve analizi yapılarak araştırılmıştır.

Bulgular: Birer olguda +1 ve del(1)(p13); add(5)(q31) ve del(12)(p11); i(X)(q10) ve +8; düzensizlikleri ikili anomaliler, bir olguda ise del(6)(p21) bulgusu tekli anomali olarak saptanırken, üç olguda normal karyotip gözlenmiştir. JAK2 mutasyonu dört olguda pozitif, üçünde ise negatif sonuç vermiştir.

Sonuç: Gözlediğimiz sonuçlardan normal karyotip ve kromozom 1 anomalileri literatürde iyi prognoz, +8 ise kötü prognoz belirteci olarak bildirilmektedir. Saptadığımız diğer anomaliler literatürde üzerinde durulan anomaliler olmamakla birlikte, del(6)(p21) hariç diğer düzensizlikler ikili anomaliler olarak gözlenmiştir. Çok yüksek risk grubunda yer alan del(12)(p11) bulgusunu taşıyan olgumuz ile kötü prognoz belirteci olan +8 bulgusu saptadığımız diğer bir olgumuzda JAK 2 mutasyonu da pozitif olarak belirlenmiştir. İyi prognoz belirteci olan +1 ve del(1)(p13) bulgularını taşıyan olgumuzda ise JAK2 negatiftir. Diğer JAK2 pozitif olan iki olguda ise normal karyotip saptanmıştır.

Results of Cytogenetics and JAK2 Mutation in Primary Myelofibrosis Cases

Rahiye Dilhan Kuru¹, Ayşe Çırakoğlu¹, Şükriye Yılmaz¹, Başak Aslaneli Çakmak¹, Asuman Çelebi¹, Yelda Tarkan Argüden¹, Ahmet Emre Eşkazan², Teoman Soysal², Ayhan Deviren¹

¹*Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye*

²*Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye*

Objective: Primary myelofibrosis (PMF) is a myeloproliferative neoplasm (MPN) characterized by proliferation of abnormal megakaryocytes with progressive bone marrow fibrosis. Cytogenetic abnormalities are observed in ~40% of cases with PMF. JAK2 V617F mutation occurs in over ~50% of PMF patients. We present cytogenetic analysis and JAK2 mutation results of 7 patients were referred from hematology clinic.

Materials-Methods: Cytogenetic analyses were performed at overnight and 24-h unstimulated BM cultures in PMF patients (3 males, 4 females) with a median age of 62 years (range 39-82). The GTL banding was applied to the slides, and karyotypes were described according to the ISCN (2016). JAK2 mutation analysis was performed in Light Cycler 480 II (Roche, Germany) by using Roche Monocolor HypeProbe Red 640 (Roche, Germany).

Results: We observed +1 and del(1)(p13); add(5)(q31) and del(12)(p11); i(X)(q10) and +8 as double anomalies in one case each, and del(6)(p21) as a sole abnormality in one case, and normal karyotype in three cases. JAK2 mutation analyses were positive in four, and negative in three cases.

Conclusion: Of our results, normal karyotype and chromosome 1 abnormalities are reported as favorable, and +8 are unfavorable markers in literature. Other abnormalities that we observed were not emphasised in literature, but apart from del(6)(p21), they were observed as double anomalies. The patient with del(12)(p11), which is very high risk marker, and another patient with +8, which is an unfavorable marker, had positive JAK2 results. But the case with +1 and del(1)(p13), which is favorable, had JAK2 negative result. The other two cases with JAK2 positive



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 077 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Suda çözünür çinko ftalosiyeninler ile in vitro fotodinamik terapi

Seyma Işık¹, Mukaddes Özçeşmeci², Ayfer Kalkan Burat², Esin Hamuryudan², Bertan Koray Balcıoğlu³, Aylin Özdemir Bahadır³, Hasan Ümit Öztürk³, Melis Denizci Öncü³, Filiz Kaya³, Berrin Erdağ³, Özge Can⁴, Müge Serhatlı³

¹TUBITAK Marmara Araştırma Merkezi MAM, Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Kocaeli, Turkey; Acibadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Bölümü, İstanbul, Türkiye

³TUBITAK Marmara Araştırma Merkezi MAM, Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Kocaeli, Turkey

⁴Acibadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Fotodinamik terapi (PDT), bir ışığa duyarlılaştırıcı madde ve ışık kullanılarak, moleküler oksijenin varlığında ROS oluşumuna ve buna bağlı olarak hücre ölümüne neden olan düşük yan etkili bir kanser terapisi. Bu çalışmada, spesifik olarak sentezlenen dört katyonik suda çözünür çinko ftalosiyenin (Pc) türevinin A253, FaDu, HT29, T47D ve L929 hücre hatları üzerindeki in vitro PDT etkilerinin gösterilmesi hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem: Pc moleküllerinin aydınlık ve karanlık sitotoksiteleri WST1 ve Alamar blue yöntemleri ile çalışılmıştır. Akış sitometrisi kullanılarak her bir molekülün farklı hücrelere bağlanma analizleri yapılmıştır. ROS üretimi kapasiteleri de DCFDA ile gösterilmiştir.

Bulgular: Karanlık ve aydınlık sitotoksiteleri analizlerine göre, kanser hücrelerin, belirli konsantrasyonlarda ftalosiyenin molekülleriyle muamele edilip, belirli dalga boylarında uyarıldıklarında, değişen derecelerde sitotoksik etki gösterdikleri saplanmıştır. Hücrelerin birbirinden farklı derecelerde sitotoksiteleri göstermeleri, her hücrenin farklı mekanizmalara sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Işıklı uyarılmanın sonrasında en yüksek derecede sitotoksik cevap FaDu hücrelerinde belirlenmiş olup onu sırasıyla HT29, T47D ve A253 hücreleri takip etmiştir. Pc türevlerinin varlığındaki ROS miktarı, her bir hücre hattı için ölçülüp, yüksek sitotoksiteleriye sahip olan üç molekül, FaDu hücre hattında daha yüksek ROS üretimi gösterirken, bunu sırasıyla sırasıyla HT29 ve A253 hücre hatları takip etmiştir. Ek olarak, Pc moleküllerinin hücre bağlanma davranışları akış sitometrisi ile incelenmiştir. Düşük bağlanma kapasiteli moleküllerin daha yüksek ışık sitotoksitesi verdiği belirlenmiştir. Bu tezatlık, yüksek sitotoksiteleriye sahip moleküllerin fazla enerji transfer kapasitesine sahip olmasıyla açıklanabilir.

Sonuç: Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan Pc türevleri, spesifiklikleri, biyouyumlulukları ve üst düzey kanser sitotoksiteleri nedeniyle klinik ortamlarda fotosensitizer ajan olarak kullanılmaya uygun olabilecek

güçlü adaylar olarak düşünülebilir.

Bu çalışma, TUBİTAK 1003-SBAG, Proje No 216S387 tarafından desteklenmiştir.

In vitro studies of water soluble zinc phthalocyanines for photodynamic therapy

Seyma Işık¹, Mukaddes Özçeşmeci², Ayfer Kalkan Burat², Esin Hamuryudan², Bertan Koray Balcıoğlu³, Aylin Özdemir Bahadır³, Hasan Ümit Öztürk³, Melis Denizci Öncü³, Filiz Kaya³, Berrin Erdağ³, Özge Can⁴, Müge Serhatlı³

¹TUBITAK Marmara Research Center MRC, Genetic Engineering and Biotechnology Institute GEPI, Kocaeli, Turkey; Department of Medical Biotechnology, Institute of Health Sciences, Acibadem Mehmet Ali Aydınlar University, İstanbul, Turkey

²Department of Chemistry, İstanbul Technical University, İstanbul, Turkey

³TUBITAK Marmara Research Center MRC, Genetic Engineering and Biotechnology Institute GEPI, Kocaeli, Turkey

⁴Department of Medical Biotechnology, Institute of Health Sciences, Acibadem Mehmet Ali Aydınlar University, İstanbul, Turkey

Objective: Photodynamic therapy (PDT) is a low side effect cancer therapy that uses a photosensitizer agent and light, and in presence of molecular oxygen, causes ROS formation and cell death. In this study, we report the in-vitro PDT effects of four specifically synthesized cationic water-soluble zinc phthalocyanine (Pc) derivatives on A253, FaDu, HT29, T47D, and L929 cell lines.

Materials-Methods: Dark and photoinduced cytotoxic activities of four molecules were performed by WST1 and Alamar blue assays. The binding capacities of the molecules were analyzed by flow cytometry. ROS production was measured using the oxidized DCFDA.

Results: Dark and light cytotoxicity assays revealed that at determined concentrations, the molecules have cytotoxic effect at varying degrees when irritated with specific wavelengths. At the same time, due to their diverse mechanisms of each cancer cell, different cytotoxic response levels were determined. In the FaDu cell line the maximum light-toxicity has been observed, followed by a decreased order in HT29, T47D, and A253 cell lines. The amount of ROS in the presence of Pc derivatives was measured for each cell line. Three molecules show higher ROS production with FaDu, followed by HT29 and A253 cell lines, respectively. In addition, cell binding behavior of Pc molecules was examined by flow cytometry. Interestingly, low binding capacity molecules yielded higher light cytotoxicity. These results may be explained by the high energy transfer capability of activated toxic molecules through flow cytometry measurements.

Conclusion: In conclusion, Pc derivatives used in this study can be considered as strong candidates to be used as photosensitizer agents in clinical settings because of their specificity, biocompatibility, and high-level cancer cytotoxicity.

This study was supported by TUBİTAK 1003-SBAG, Project number 216S387.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 080 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Bir ALK İnhibitörü olan AZD3463'ün Rapamisin ile Kombinasyonu Meme Kanseri Hücrelerinde Rapamisinin Anti-kanser Etkilerini Arttırır

Neslihan Pınar Özates Ay, Fatma Söğütü, Cumhuriyet
Gündüz, Çığır Biray Avcı

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, İzmir

Amaç: Meme kanseri kadınlarda en sık görülen neoplazilerdir ve güncel tedavi protokollerinde rapamisin analogları sıklıkla kullanılmaktadır. Rapamisinin tedavide kullanımını sınırlandırıcı faktörlerden biri PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağının diğer sinyal yolları ile crosstalk mekanizması bulunması ve feedback regülasyonlarla tekrar aktifleşebilmesidir. Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) reseptörü fosforilasyonu ile PI3K/AKT, MAPK/ERK, ve STAT3 downstream yollarını aktive ederek kanser hücrelerinde hücre büyümesi, yaşam süresi, metastaz ve angiogenezi arttırmaktadır. AZD3463, potansiyel ALK/IGF1R inhibitörü olarak kullanılan anti-kanser ajandır. Bu nedenle çalışmamızda PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağının vertikal inhibisyonunu sağlamak amacıyla rapamisin ile bir ALK inhibitörü olan AZD3463'ü kombine ederek, meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerindeki *in vitro* etkisi araştırılmıştır.

Yöntem: Araştırmamızda Rapamisin ve AZD3463 kombinasyonunun MCF7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi ve izobologram analizinin yapılabilmesi için WST1 testinden yararlanılmıştır. Etkin maddelerin ve kombinasyonun IC₅₀ değerleri ve kombinasyon indeksi CalcuSyn V 2.0 yazılımıyla hesaplanmıştır. Etkin maddelerin ayrı ayrı ve kombine olarak uygulanmasının apoptotik etkisi Annexin V ve JC1 yöntemleri; otofaji üzerine olan etkisi Premo Autophagy Tb/GFP TR-FRET LC3B Expression Kit ile değerlendirilmiştir. Etkin maddelerin hücre döngüsü üzerine etkileri Cell Cycle testi ile belirlenmiştir. Ayrıca Rapamisin, AZD3463 ve kombinasyonlarının IC₅₀ dozunun uygulandığı MCF7 hücre hattında PI3K/Akt/mTOR yolağı ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerinde meydana gelen değişiklikler kantitatif Real-time PCR (qRT-PCR) ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: AZD, rapamisin ve kombinasyonlarının hücre canlılığı, apoptoz, otofaji, hücre döngüsü ve MCF7 hücre hattındaki gen ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkileri tabloda özetlenmiştir.

Sonuç: Yaptığımız bu çalışmada, Rapamisin-AZD3463 kombinasyonunun, ALK/IGF1R yolağının eş zamanlı inhibisyonu aracılığıyla, rapamisin tedavide kullanımını sınırlandıran faktörlerin üstesinden gelerek tedavide kullanım etkinliğini arttırabileceğini öne sürmekteyiz.

An ALK Inhibitor, AZD3463 Improves the Anti-cancer Effects of Rapamycin in Breast Cancer Cells

Neslihan Pınar Özates Ay, Fatma Söğütü, Cumhuriyet
Gündüz, Çığır Biray Avcı

Ege University School of Medicine, Department of Medical
Biology, İzmir

Objectives: Breast cancer is the most common type of neoplasia in women and rapamycin analogs are frequently used in current treatment protocols. The limitations of the use of rapamycin in therapy include the activation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by other signaling pathways and reactivation via feedback regulation. AZD3463 is an anti-cancer agent used as a potential ALK/IGF1R inhibitor and it has been determined that ALK inhibitors induce PI3K/AKT/mTOR-mediated apoptosis and autophagy. In this study we investigated the *in vitro* effect of the rapamycin-AZD3463 combination on breast cancer by providing lateral inhibition of PI3K signaling pathway.

Material Methods: Cytotoxic, apoptotic, autophagic and cytostatic effects of rapamycin, AZD3463 and combination on MCF7 cell line were assessed by the WST1, Annexin V and JC-1, Tb/GFP TR-FRET LC3B Expression, Cycletest assays in a dose- and time-dependent manner. Expression level alterations of PI3K/Akt/mTOR pathway related genes in treated MCF7 cells were evaluated by quantitative Real-time PCR (qRT-PCR), compared to control cells.

Result: The effects of AZD, rapamycin and combinations on cell viability, apoptosis, autophagy, cell cycle and gene expression levels in MCF7 cell line are summarized in the table.

Conclusion: In this study, we suggest that the combination of rapamycin-AZD3463 can increase the efficacy of treatment by overcoming factors limiting the use of rapamycin in the treatment by simultaneous inhibition of ALK / IGF1R pathway.



PS – 080 POSTER BİLDİRİ / KANSER

AZD, rapamisin ve kombinasyonlarının, hücre canlılığı, apoptoz, otofaji, hücre döngüsü ve MCF7 hücre hattındaki gen ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkileri

Bulgular	AZD3463	Rapamisin	Kombinasyon	Yorumu
IC50 değerleri	765nM (72 saat)	10.03nM (72 saat)	AZD3463 - 28.85nM Rapa - 0.3nM (72 saat)	Kombinasyon durumunda sinerjistik bir etki gözlenmiştir.
Annexin V Testi (Kontrolle göre kat değişimi)	(+) 3.6	(+) 1.2	(+) 7.4	Apoptozda, tek dozlara göre kombinasyon uygulaması ile artış gözlenmiştir.
JC-1 Testi (Kontrolle göre mitokondriyal membran potansiyelinin değişim yüzdesi)	(+) 0.04	(+) 5.5	(+) 48.2	Kombinasyon uygulaması mitokondriyal membran potansiyelini arttırmıştır.
Cell Cycle Testi (Kontrol noktası tutulumlarının kontrole göre kat değişimi)	G0/G1 (+)2.4 S- 1.05 G2/M- (-) 2.7	G0/G1- (+)2.8 S-1.12 G2/M-(-) 4.7	G0/G1- (+)2 S-1.2 G2/M- (-) 1.8	Rapamisin, AZD3463 ve kombinasyonları güçlü G0/G1 tutulumuna sebep olmaktadır.
Otofaji Deneyi (otofagozom birikiminin kontrole göre kat değişimi)	(+) 3.84	(+) 3.31	(+) 4.17	Kombinasyon uygulamasının otofajik etkisi tek doz uygulamalarından daha kuvvetlidir.
Gen Ekspresyon Analizi (PI3K/AKT/mTOR ilişkili genler)	TSC1(+)1,75 TSC2(+)1,75 TLR4(+) 3,02 NFkB1A (-)1,62 BTK(+) 6,34	TSC1(+)1,79 TSC2(-)1,41 TLR4(-) 4,39 NFkB1A (-) 2,13 BTK(-) 8,13	TSC1(+)2,48 TSC2(+)3,81 TLR4(-) 18,25 NFkB1A (-) 2,79 BTK(-) 23,26	Kombinasyon uygulamasının tek dozlardan daha güçlü etki gösterdiği genlerdir.

The effects of AZD, rapamycin and combinations on cell viability, apoptosis, autophagy, cell cycle and gene expression levels in MCF7 cell line.

Results	AZD3463	Rapamycin	Combination	Comment
IC50 Values	765nM (72nd)	10.03nM (72nd)	AZD-28.85nM Rapa-0.3nM (72nd)	A synergistic effect was observed in the combination.
Annexin V Assay (Fold change relative to a control)	(+) 3.6	(+) 1.2	(+) 7.4	It was determined that apoptosis increased in combination according to separate applications.
JC-1 Assay (% change of mitochondrial membrane potential)	(+) 0.04	(+) 5.5	(+) 48.2	Combination application increased mitochondrial membrane potential.
Cell Cycle Assay (Fold change of check point arrest)	G0/G1 (+)2.4 S- 1.05 G2/M- (-) 2.7	G0/G1- (+)2.8 S-1.12 G2/M-(-) 4.7	G0/G1- (+)2 S-1.2 G2/M- (-) 1.8	Rapamycin, AZD3463, and combination have been found to effectively induce G0/G1 arrest.
Autophagy Assay (Fold change of autophagosome accumulation)	(+) 3.84	(+) 3.31	(+) 4.17	Combination application in terms of autophagic effects is more effective than individual doses.
Gene Expression Analysis (PI3K/AKT/mTOR pathway related genes)	TSC1(+)1,75 TSC2(+)1,75 TLR4(+) 3,02 NFkB1A (-)1,62 BTK(+) 6,34	TSC1(+)1,79 TSC2(-)1,41 TLR4(-) 4,39 NFkB1A (-) 2,13 BTK(-) 8,13	TSC1(+)2,48 TSC2(+)3,81 TLR4(-) 18,25 NFkB1A (-) 2,79 BTK(-) 23,26	It was determined that the combination application was more effective than the other groups.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 082 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Kolon kanseri hücrelerinde (HCT-116) biyolojik olarak transforme edilmiş propolisin apoptotik etkileri

Latife Merve Oktay¹, Burak Durmaz², Hikmet Memmedov², Nur Selvi Günel¹, Hatice Kalkan Yıldırım³, Eser Yıldırım Sözmen²

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

Amaç: Çalışmamızda biyolojik transformasyon ile alerjen molekül içeriği düşürülmüş propolisin, kolon kanseri hücrelerindeki (HCT-116) apoptotik etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Katı propolis tartım, öğütme, boyutlandırma işlemlerinden sonra *Lactobacillus plantarum* ile inokülme göre 3 farklı oranda (%1,5, %2,5 ve %3,5) ve 2 farklı çözügene (su, %50 polietilen glükol, PEG) göre hazırlanmıştır. Kromatografi analizleri UPLC-MS/MS (Waters, Milford, MA) sisteminde MassLynx™ 4.1 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin HCT-116 hücrelerinde apoptoz belirteçleri olan kaspaz-3, -8, -9, sitokrom-c, APAF ve TRAIL düzeylerine etkileri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Transformasyon yapılan örnekler ile yapılmayan kontrol grubu örnekleri karşılaştırılmıştır. Her örnek 3 tekrarlı çalışılmış, veriler SPSS programı ile hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki farklar ANOVA testi ve ikili karşılaştırmalar Least significant differences testi ile yapılmıştır.

Bulgular: Apoptoz bulgularımıza göre; PEG’de çözülen ve % 3,5 *L. plantarum* L8014 ile transforme edilen propolis örneği, kontrole göre kaspaz-3, -8, -9, sitokrom c, APAF, TRAIL düzeylerini sırasıyla 1,5; 1,7; 1,8; 1,4; 1,8; 1,5 kat artırmıştır (p<0,05). Suda çözölmüş ve % 2,5 *L. plantarum* L8014 ile transforme edilen propolis örneği kontrole göre kaspaz-3, -8, -9, APAF, TRAIL düzeylerinde sırasıyla 1,6; 1,8; 1,9; 1,6; 1,7 kat artışa sebep olmuştur (p<0,05). Suda çözölmüş (40kHz/5dk. ultrasonikasyon uygulama) ve % 1,5 *L. plantarum* L8014 ile transforme edilen propolis örneğinde, kontrole göre kaspaz-8, -9, sitokrom c, APAF, TRAIL düzeylerinde sırasıyla 1,4; 1,4; 1,3; 1,5; 1,4 kat artış gözlemlenmiştir (p<0,05). Suda çözölmüş (40kHz/10dk. ultrasonikasyon uygulama) ve % 2,5 *L. plantarum* İSLG ile transforme edilen örnek, kontrole göre kaspaz-3 ve sitokrom c miktarlarında 1,5 ve 1,3 kat artışa neden olmuştur (p<0,05).

Sonuç: Sonuçlarımızdan elde edilen veriler biyolojik olarak transforme olmuş propolisin kolon kanseri hücreleri üzerinde transforme edilmemiş gruptan daha yüksek apoptotik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Alerjen molekül içeriği düşürülmüş propolisin biyo-

yararlılığının artmış olduğunu ve kanser tedavisinde faydalı potansiyel bir madde olduğunu düşünmekteyiz.

Apoptotic effects of biologically transformed propolis in colon cancer cells (HCT-116)

Latife Merve Oktay¹, Burak Durmaz², Hikmet Memmedov², Nur Selvi Günel¹, Hatice Kalkan Yıldırım³, Eser Yıldırım Sözmen²

¹Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İzmir

²Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, İzmir

³Ege University Faculty of Engineering, Food Engineering Department, İzmir

Objective: In this study, we aimed to investigate the apoptotic effects of propolis, which allergen molecule content was reduced by the biological transformation in colon cancer cell line (HCT-116).

Materials-Methods: The solid propolis was prepared with *Lactobacillus plantarum* inoculation in 3 different proportions (1.5%, 2.5% and 3.5%) and in 2 different solvents (water, 50% polyethylene glycol, PEG). Chromatography analyzes were performed by using UPLC-MS/MS system. The effects of the samples on the levels of caspase-3, -8, -9, cytochrome-c, APAF and TRAIL were measured by ELISA. Transformed samples and nontransformed control group samples were compared. Each sample was studied in triplicate and the data were calculated with SPSS program. Differences between groups were analyzed by using ANOVA.

Results: According to our findings; the incubation with the sample dissolved in PEG and transformed with 3,5% *L. plantarum* L8014 caused 1.5; 1.7; 1.8; 1.4; 1.8; 1.5-fold increase in caspase-3, -8, -9, cytochrome c, APAF, TRAIL levels compared to the control group, respectively (p<0.05). It was determined that 1.6; 1.8; 1.9; 1.6; 1.7 –fold increase in caspase-3, -8, -9, APAF, TRAIL levels after incubation with the sample dissolved in water and transformed with 2.5% *L. plantarum* L8014 compared to the control group, respectively (p<0.05). The incubation with the sample dissolved in water (ultrasonicated at 40kHz/5min.) and transformed with 1.5% *L. plantarum* L8014 caused 1,4; 1,4; 1,3; 1,5; 1,4-fold increase in the levels of caspase-8, -9, cytochrome c, APAF, TRAIL compared to the control group, respectively (p<0.05). There was 1.5 and 1.3-fold increase in caspase-3 and cytochrome c levels after treatment with the sample dissolved in water (ultrasonicated at 40kHz/10min.) and transformed with 2.5% *L. plantarum* ISLG compared to the control group, respectively (p<0.05).

Conclusion: The data obtained from our results indicated that biologically-transformed propolis had higher apoptotic effect than non-transformed group on colon cancer cells.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 083 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Temozolomid ve AZD3463, T98G glioblastoma multiform hücreleri üzerinde sinerjistik antikanser etkinliğe sahiptir

Bakiye Göker Bağca, Neslihan Pınar Özateş Ay, Aycan Aşık, Cumhuriyet Gündüz, Çığır Biray Avcı

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Derece IV olarak tanımlanan glioblastoma multiform (GBM), merkezi sinir sistemi tümörlerinin en malign fenotipini oluşturmaktadır. Temozolomid, GBM tedavisi için kullanılan alkilleyici bir ajandır. Temozolomid GBM tedavisinde dikkat çekici etkinliğe sahip olmakla birlikte, klinik dozunun yüksek olması, bu ajanın alternatif kombinasyonel uygulamalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır. AZD3463, GBM'de aşırı eksprese edilen ALK reseptör tirozin kinazının güçlü bir inhibitörüdür. Bu çalışmanın amacı, GBM hücrelerinde ALK inhibisyonunun temozolomid aktivitesi üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Temozolomid ve AZD3463 etken maddeleri, DMSO içerisinde çözülmiştir. ATCC'den satın alınan T98G GBM hücre hattı, EMEM kullanılarak kültüre edilmiştir. Temozolomid, AZD3463 ve kombinasyonlarının sitotoksik etkileri WST8 (Biointersect) testi aracılığıyla, zaman ve doz bağımlı şekilde belirlenmiştir. IC₅₀ değerleri ve kombinasyon indeksi (CI) CalcuSyn (Biosoft) ile yazılımı ile hesaplanmıştır. Ajanların apoptoz ve hücre döngüsü üzerindeki etkileri sırasıyla Annexin V (BD Biosciences) ve Cycletest plus DNA (BD Biosciences) yöntemleri ve BD accuri C6 flow sitometri cihazı ve yazılımı kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular: Temozolomid ve AZD3463 etken maddelerinin IC₅₀ değerleri 48. saatte sırasıyla 1.54 mM ve 529 nM olarak belirlenmiştir. CI değeri ise 0.45 olarak bulunmuş ve kombinasyon sinerjistik olarak belirlenmiştir (ED₇₅ değeri: 1.4mM temozolomid, 1.4μM AZD3463). Temozolomid, AZD3463 ve etken maddelerin kombinasyonu kontrole göre sırasıyla 2.76, 1.17 ve 3.31 kat apoptoz artışına neden olmuştur. Temozolomid, AZD3463 ve etken maddelerin kombinasyonu farklı oranlarda G1 / S hücre döngüsü arrestine neden olmuştur.

Sonuç: Elde edilen sonuçlar, AZD3463 ile kombinasyon halinde uygulamanın, GBM hücrelerinde temozolomid dozunu azaltmak için alternatif bir yaklaşım olabileceğini göstermektedir.

Temozolomide and AZD3463 have synergistic anticancer effect on T98G glioblastoma multiforme cells

Bakiye Göker Bağca, Neslihan Pınar Özateş Ay, Aycan Aşık, Cumhuriyet Gündüz, Çığır Biray Avcı

Department of Medical Biology, School of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

Objective: Glioblastoma multiforme (GBM) comprises most malignant phenotype of central nervous system tumors which are defined as grade IV. Temozolomide is an alkylating agent which is used for GBM treatment. Although temozolomide has a remarkable effect, the high application dose reveals the necessity of combination with other agents in the treatment of GBM. AZD3463 is a novel ALK receptor tyrosine kinase inhibitor which is over-expressed in GBM. The aim of this study was to investigate whether the inhibition of ALK positively affects the activity of temozolomide in GBM.

Materials-Methods: Temozolomide and AZD3463 were dissolved in DMSO. T98G GBM cell line obtained from ATCC was cultured via EMEM. The cytotoxic effects of temozolomide, AZD3463 and their combination were determined in time and dose dependent manner by using WST8 (Biointersect) assay. IC₅₀ values and the combination index (CI) were calculated by CalcuSyn (Biosoft). Effects of the agents on apoptosis and cell cycle status were determined by BD accuri C6 flow cytometry and Annexin V (BD Biosciences) and Cycletest plus DNA (BD Biosciences) assays, respectively.

Results: IC₅₀ values of temozolomide and AZD3463 were determined as 1.54mM and 529nM on 48th hours, respectively. CI value was found 0.45 and the combination was evaluated as synergistic (ED₇₅ value: 1.4mM temozolomide, 1.4μM AZD3463).

Temozolomide, AZD3463 and the combination induced apoptosis 2.76, 1.17, and 3.31 folds, respectively. Temozolomide, AZD3463 and the combination arrested cell cycle G1/S at different ratios.

Conclusion: Our results suggested that AZD3463 combination may be an alternative approach to dose reduction of TMZ for GBM cells.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 084 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Yeni Sentezlenen Bor Esterlerinin Diester Sitrik Asit ve Monoester Sitrik Asitin Karaciğer Kanseri Hücrelerine Sitotoksik Etkileri

Tuğba UYSAL KILIÇ¹, Gülçin ALP AVCI¹, Melda BOLAT BÜLTER², Gamze NAMALIR¹, Emre AVCI¹, Dursun Ali KÖSE², Cumhuriyet BİLGİ³

¹Hitit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Çorum

²Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı, Çorum

³Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Bor, yeryüzünde bulunan yaygın bir elementtir ve dünyadaki en önemli bor rezervleri Türkiye’de bulunmaktadır. Aşırı bor maruziyeti insanlarda bazı toksik semptomlara neden olmaktadır ve halen bu mekanizma aydınlatılamamıştır. Karaciğer, böbrek, merkezi sinir sistemi ve gastrointestinal yol en etkili organlardır. İnsanlar çoğunlukla bora boratlar veya borik asit olarak maruz kalırlar. Bor, karaciğerde borik asite metabolize olur ve bu da karaciğerde ve biriken dışkı sistem organlarında birikir. Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş monoester ve diester sitrik asit bor bileşiklerinin karaciğer hepatoselüler hücre hattı (HepG2) üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırıldı. Kontrol olarak murin fibroblast hücre hattı (L929) 5 x 10³ hücre üçerli replika halinde kuyulara ekildi ve 1,25-2,5 µM konsantrasyonları çalışılarak %5 CO₂ inkübatörde 24 saat ve 48 saat inkübe edildi. Her bir kuyuya 20 µL CellTiter 96 AQueous One Solution (Promega) eklendi ve 4 saat inkübasyonun ardından, 24. ve 48. saatte 490 nm’de spektrofotometrede ölçüm yapıldı. HepG2 hücrelerinde 48 saat inkübasyondan sonra sitrik asit diesterlerinin 1,25- 2,5-5 µM borat konsantrasyonlarında belirgin bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu tespit edildi (sırasıyla 25%, 60% ve 68%). L929 hücrelerinde 1,25- 2,5-5 µM konsantrasyonları bu sitotoksik etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir. Monositrik asit borat konsantrasyonlarının HepG2 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 5 µM, 2,5 µM ve 1,25 µM konsantrasyonlarında 48 saat inkübasyon sonrasında sırasıyla % 45,% 63 ve % 76 olarak gözlemlendi. Çalışmamızda borik asidin HepG2 hücreleri üzerinde inhibitör etki gösterdiğini gözlemledik. Tüm bu sonuçlar, bor ve boraks gibi türevlerinin, etkili bir antikanser ajanı olarak kullanılması potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Cytotoxic Effects of Newly Synthesized Boron esters of Diester Citric Acid and Monoester Citric Acid on Liver Cancer Cells

Tuğba UYSAL KILIÇ¹, Gülçin ALP AVCI¹, Melda BOLAT BÜLTER², Gamze NAMALIR¹, Emre AVCI¹, Dursun Ali KÖSE², Cumhuriyet BİLGİ³

¹Hitit University, Faculty of Art and Science, Department of Molecular Biology and Genetic, Çorum

²Hitit University, Faculty of Arts and Science, Department of Chemistry, Çorum

³High Specialized University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara

Boron is a widely available element found in the earth’s crust and the most significant boron reserves in the world are in Turkey. Excess boron exposure cause some toxic symptoms in humans and this mechanism has not been elucidated. Liver, kidney, central nervous system, and gastrointestinal track were the most effected organs. Humans mostly exposure to boron as borates or boric acid. Boron is metabolized into boric acid in the liver, which accumulates mainly in the liver, and in the excretory system organs. In this study, the cytotoxic effects of newly synthesized monoester and diester sitric acid boron compounds on liver hepatocellular cell line (HepG2) were investigated. As a control, the murine fibroblast cell line (L929) was grown into three replicates of 5 x 10³ cells and incubated for 24 hours and 48 hours in a 5% CO₂ incubator by studying concentrations of 1.25-2.5 µM. 20 µL of CellTiter 96 AQueous One Solution (Promega) was added to each well, and after 4 hours of incubation, the spectrophotometer was measured at 490 nm at 24 and 48 hours. After 48 hours incubation in HepG2 cells, citric acid diesters had a significant cytotoxic effect at concentrations of 1.25-2.5-5 µM borate (25%, 60% and 68%, respectively) whereas 1,25- 2,5- 5 µM concentrations in L929 cells does not have such apoptotic effect. Cytotoxic effects of borate monositric acid at 5µM, 2,5 µM and 1,25 µM were 45%, 63%, 76%, respectively. We have observed the inhibitory effect of borate diesters of sitric acid and borate monositric acid on HepG2 cell line. All these results suggest that boron and its derivatives like borax have great potential to be used as an effective anticancer agent.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 085 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Meme Kanseri Hastalarında Gas6 ve Reseptörlerine Ait Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

İsmail Celik¹, Gamze Gizem Tekeli¹, Fatih Büyüker²,
Sultan Mehtap Büyüker³, Özlem Bingöl Özakpınar¹

¹Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim
Dalı, İstanbul

²Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul

³Üsküdar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,
İstanbul

Amaç: Meme kanseri, kansere bağlı ölümler içerisinde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Meme kanserinde genetik, epigenetik ve transkriptomik değişiklikler nedeniyle hücrel aktivitelere yer alan proteinler ve yollar tedaviye yaklaşımda öncelikli tercih nedenlerindendir. Growth arrest specific-6 (Gas6) K vitaminine bağımlı bir proteindir ve Tyro3, Axl ve Mer (TAM) olarak adlandırılan reseptörler ile etkileşime girerek biyolojik fonksiyonlarını yerine getirir. Son yapılan çalışmalar, Gas6/TAM sinyalizasyonunun kanser patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada meme kanseri ve GAS6/TAM reseptör polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya 32 meme kanserli hasta ile 29 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Gas6 için rs8191974 ve rs1803628; Tyro-3 için rs2289743 ve rs2277537; Axl için rs2304232 ve rs2304234; Mer için rs869016 ve rs4374383 SNP 'leri kullanıldı ve genotipleme Real-Time PZR ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Yapmış olduğumuz istatistiksel analizler sonucunda GAS6 ve TAM reseptörlerinin 8SNP bakımından istatistiksel anlamlı bir fark göstermediklerini belirledik. Diğer taraftan, plazma GAS6 seviyelerinin meme kanseri hastalarında kontrole kıyasla oldukça yüksek olduğunu saptadık (p=0,0001).

Sonuç: Çalışmamız GAS6/TAM polimorfizminin meme kanserindeki olası rolünün araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu hipotezi doğrulamak ve hastalıkla en iyi şekilde ilişkilendirilecek olası genetik bileşenleri belirlemek için daha geniş popülasyonlara sahip başka çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Investigation of Gene Polymorphisms of Gas6 (Growtharrest specific-6) and its Receptors in Patients with Breast Cancer

İsmail Celik¹, Gamze Gizem Tekeli¹, Fatih Büyüker²,
Sultan Mehtap Büyüker³, Özlem Bingöl Özakpınar¹

¹Marmara University, Faculty of Pharmacy, Department of
Biochemistry, İstanbul

²Medeniyet University, Göztepe Education Training Hospital,
Department of General Surgery, İstanbul

³Üsküdar University, High School of Health, İstanbul

Objective: Breast cancer is the second most common cancer-related death after lung cancer. Proteins and pathways involved in cellular activities due to genetic, epigenetic and transcriptomic changes in breast cancer are among the primary reasons for treatment approach. Growth arrest specific-6 (Gas6) is a vitamin K-dependent protein that interacts with receptors called Tyro3, Axl and Mer (TAM) to perform biological functions. Recent studies show that Gas6 / TAM signaling may play a role in cancer pathogenesis. In this study, we aimed to investigate the relationship between GAS6 / TAM receptor polymorphisms and breast cancer.

Materials-Methods: 32 patients with breast cancer and 29 healthy volunteers were included. rs8191974 and rs1803628 for the GAS6; rs2289743 and rs2277537 for the TYRO-3 gene; rs2304232 and rs2304234 for the AXL gene; rs869016 and rs4374383 for the MER were used and genotyping was performed by RT-PCR.

Results: As a result of our statistical analysis, we determined that GAS6 and TAM receptors showed no statistically significant difference in terms of 8SNP. On the other hand, we found that plasma GAS6 levels were significantly higher in breast cancer patients compared to control (p = 0.0001).

Conclusion: Our study is the first to demonstrate the role of GAS6/TAM polymorphism in breast cancer. Further studies with larger populations are needed in order to validate this hypothesis, as well as to determine the possible genetic components that could be best linked to the disease.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 086 POSTER BİLDİRİ / KANSER

U-87 MG Glioma Hücre Hattında Telomeraz İnhibitörü BIBR1532' nin Gen Ekspresyon Mekanizmasındaki Etkisi

Ali Haydar Kaygusuz¹, Zaka Abbaszade², Vahidreza Karamad², Cumhuri Gündüz³, Çığır Biray Avcı³

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Glioma bir beyin tümörü olup beyin nöronlara destek olan dokularından kaynak alır. Gliomalar malin beyin tümörlerinin önemli bir kısmını oluşturmakla beraber, primer beyin tümörlerinin agresif, ve nörolojik destrüktif özelliklere sahip yaygın bir alt türüdür. BIBR1532 (2-[(E)-3-Naphtalen-2-il-but-2-enoilamino]-benzoik asit) en çok çalışılan telomeraz inhibitörlerinden biridir ve telomeraz TERC ve TERT bileşenlerini hedefler. BIBR1532'nin U-87 MG hücre hattı üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkilerini, bununla ilgili gen ekspresyonlarını araştırdığımız bir çalışmada, SeahorseXFp teknolojisi, hücrelerde iki ana enerji üretme yolu mitokondriyal solunum, glikoliz aynı anda ölçebilme kapasitesine sahip olması ile Real-time RT-PCR yöntemi ile genetik değişimleri incelenmiştir. **Yöntem:** Araştırmamızda BIBR1532 etken maddesinin 72. Saatteki IC50 dozunun U-87 MG hücre hattının enerji mekanizması üzerine etkileri Seahorse XFp Hücre Enerji Fenotipi Testi ile kit protokolüne uygun şekilde çalışılarak belirlenmiştir. Seahorse XFp Ekstrasellüler Akım Analizörleri ile kullanılan Seahorse XFp Hücre Enerji Fenotipi Testi (Seahorse XFp Energy Phenotype Test Kit), hücre enerji metabolizmasının üç temel parametresini (Temel Fenotip, Stresli Fenotip ve Metabolik Potansiyel) OGDH, G6PD, GCK, FBP1, genlerinin ekspresyon seviyesindeki değişiklikler Real-time RT-PCR yöntemi ile belirlenerek moleküler seviyede değişikliklerle ilişkilendirilebilmesi sağlanmıştır.

Bulgular: BIBR1532 etken maddesinin 72. Saatteki IC50 dozunun uygulandığı U-87 MG hücre hattında kontrol gruba kıyasla hem ekstrasellüler asidifikasyon değerlerinde hemde oksijen alım seviyesinde artış gözlemlenerek metabolizmanın energetik yöne eğilim gösterdiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra metabolik potansiyel değerleri kıyaslandığında önemli fark olmadığı görülmektedir. Metabolik yolda önemli rolleri olan OGDH, G6PD, GCK, FBP1 genlerinin ekspresyon seviyesindeki değişiklik kontrol grubu verilerine göre kıyaslandığında sırasıyla 5.989, 3.979, 6.0599, 8.6939 kat artmıştır.

Sonuç: Walburg etkisi olarak da adlandırılan normoksik koşullarda bile glioma hücreleri anaerobik glikoliz metabolizmasını kullanması özelliği kanser hücrelerine sağkalım için farklı özellikler kazandırmasına sebep olan

OGDH, G6PD, GCK, FBP1 genlerinin, kanserli hücrelerini daha dirençli hale getirmektedir. Metabolizma hedefli yaklaşımında glioma hücrelerinde konvansiyonel BIBR1532 tedavisinde apoptoz ve poliferasyonunun zayıflamasına yanısıra metabolizma yolağı genleri üzerinde anlamlı değişimlerin ortaya çıkmış olduğunu göz önünde bulundurarak glioma hücre tedavisinde kullanılan tedavi yöntemlerine katkı sağlayacağını öngörmekteyiz.

Effect of Telomerase Inhibitor BIBR1532 on Gene Expression Mechanism in U-87 MG Glioma Cell Line

Ali Haydar Kaygusuz¹, Zaka Abbaszade², Vahidreza Karamad², Cumhuri Gündüz³, Çığır Biray Avcı³

¹Ege University, Faculty of Medicine, Department of Oncology, İzmir

²Ege University, Institute of Science and Technology, Department of Biotechnology, İzmir

³Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İzmir

Objective: Glioma is a brain tumor originating from the tissues of the brain that support neurons. Although gliomas constitute an important part of malignant brain tumors, they are common subtype of primary brain tumors with aggressive and neurological destructive features. BIBR1532 (2-[(E)-3-Naphtalen-2-yl-but-2-enoylamino]-benzoic acid) is one of the most studied telomerase inhibitors and targets the telomerase TERC and TERT components. The U-87 MG cell line of BIBR1532 In this study, SeahorseXFp technology, the ability to measure the two main energy-producing pathways mitochondrial respiration, glycolysis at the same time, genetic changes were investigated by the Real-time RT-PCR method.

Materials-Methods: In our study, the effects of IC50 dose of BIBR1532 active agent at 72 hours on energy mechanism of U-87 MG cell line were determined by Seahorse XFp Cell Energy Phenotype Test in accordance with the kit protocol. The Seahorse XFp Cell Energy Phenotype Test Kit (Seahorse XFp Energy Phenotype Test Kit) used, Seahorse XFp Extracellular Flow Analyzers, three basic parameters of cell energy metabolism (Basic Phenotype, Stressed Phenotype and Metabolic Potential) OGDH, G6PD, GCK, FBP1 Real-time RT-PCR method was used to determine the correlation with molecular level changes.

Results: It was determined that metabolism tended to energetic direction by increasing both extracellular acidification values and oxygen uptake levels in U-87 MG cell line where IC50 dose was applied at 72h of BIBR1532 active substance compared to control group. In addition, when the metabolic potential values are compared, it is seen that there is no significant difference.

Conclusion: Even under normoxic conditions, also called



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 086 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Walburg effect, the use of glioma cells with anaerobic glycolysis metabolism makes cancer cells more resistant to OGDH, G6PD, GCK, FBP1 genes, which cause cancer cells to have different features for survival. In the targeted approach of metabolism, we anticipate that apoptosis, proliferation of glioma cells will be reduced in the treatment of conventional BIBR1532 as well as significant changes in metabolic pathway genes and that it will contribute to the treatment methods used in glioma cell therapy.



PS – 035 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Nörodejeneratif hastalıkların seyrinde oral kavite kaynaklı kök hücrelerin etkileri: sistematik bir derleme

Emel Uzunoğlu Özyürek¹, Gizem Önal², Serap Dökmeci²

¹Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Oral kavite kaynaklı kök hücrelerin (OKKKH), Parkinson (PH), Alzheimer (AH) Huntington (HH) ve amiyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıkların (NH) seyri/tedavisi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla in vitro ve in vivo çalışmalardan yayınlanmış veriler sistematik olarak gözden geçirilmiş ve eleştirel bir şekilde analiz edilmiştir. Pubmed, Scopus ve Web of Science veri tabanları kullanılarak kapsamlı bir elektronik arama yapılmıştır. Çalışmalar dahil etme/hariç tutma kriterlerine göre uygunluk açısından eleştirel bir şekilde değerlendirilmiştir. Çalışmaların yanlışlık riskinin değerlendirilmesi ve kanıt sentezi yapılmıştır. Toplam 18 çalışma (8 in vivo ve 10 in vitro) dahil edilme kriterlerini karşılamıştır. PH, 7 in vivo ve 7 in vitro çalışmada modellenirken, AD 1 in vivo ve 4 in vitro çalışmada modellenmiştir. ALS modelinde sadece 1 in vitro çalışmada oral kavite kaynaklı kök hücrelerin etkileri değerlendirilmiştir. Oral kavite kaynaklı kök hücrelerin, PH'nın veya AH'nın seyrinde olumlu etkilerinin olduğunu bildiren in vitro çalışmaların kanıt düzeyi orta derecede bulunmuştur. İn vivo çalışmalara bakıldığında, oral kavite kaynaklı kök hücrelerin PH hayvan modellerinde hastalığın tedavisinde etkileri değerlendirildiğinde olumlu yönde güçlü kanıtlar bulunurken; AH hayvan modellerinde bu değerlendirmede sınırlı kanıtlar bulunmuştur. Oral kavite kaynaklı kök hücrelerin kullanılmasının, NH modellendiği nöral hücrelerin canlılığını arttırdığı in vitro olarak gösterilmiştir. İn vivo çalışmalar sonucunda, oral kavite kaynaklı kök hücrelerin, PH veya AH hayvan modellerinin motor ve bilişsel işlevlerini geliştirdiği bildirilmiştir. Klinik uygulamalar öncesinde NH'ler için düşük önyargı riski olan ve tekrarlanabilir veri içeren in vitro/in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Effects of oral cavity derived stem cells on the progress of neurodegenerative diseases: a systematic review

Emel Uzunoğlu Özyürek¹, Gizem Önal², Serap Dökmeci²

¹Hacettepe University Faculty of Dentistry, Department of Endodontics, Ankara

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara

Published data from in vitro and in vivo studies was reviewed systematically and analyzed critically in order to evaluate the effect of oral cavity derived stem cells on the recovery/therapy of neurodegenerative diseases (NDs) such as Parkinson's (PD), Alzheimer's (AD), Huntington's (HD), and amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

A comprehensive electronic search was performed using Pubmed, Scopus, and Web of Science databases. Studies were critically evaluated for the eligibility against inclusion/exclusion criteria. Evaluation of the risk of bias of the studies and evidence synthesis were performed. A total of 18 studies (8 in vivo and 10 in vitro) were met inclusion criteria. PD was induced in 7 in vivo and 7 in vitro studies, while AD was induced in 1 in vivo and 4 in vitro studies. Only 1 in vitro study evaluated ALS. Moderate evidence was found for in vitro studies reporting positive effect of oral cavity derived stem cells on either PD or AD recovery. Strong evidence was found for in vivo studies which were used PD animal models; while limited evidence was found for effect of oral cavity-derived stem cells on the recovery of the AD in vivo.

The use of oral cavity derived stem cells increased viability of neural cell models of NDs in vitro. In vivo studies reported that oral cavity derived stem cells improved the motor and cognitive function of PD or AD animal models. Further in vitro/in vivo studies with low bias risk and reproducible data will be needed for NDs before clinical implications.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 036 POSTER BİLDİRİ / KANSER

Transgenik Fare Modelinde Dalak ve Omurilik Kökenli Hematopoietik Kök Hücrelerin Uzun Dönem Yeniden Yapılandırılması ve Hematopoiezin Sağlanması

Deniz Altunsu¹, Seyma Çalış², Melih Acar¹, Timuçin Avşar¹

¹Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Kemik iliğinde bulunan hematopoietik kök hücreler (HKK) tüm kan hücrelerinin üretilmesini sağlamaktadır. Kemik iliği, HKK'lerin en yoğun olarak yerleştiği kaynaktır. Son yıllarda kök hücre popülasyonları, farklılaşma potansiyelleri ve HKK'lerin nişleri ile ilgili ayrıntılı araştırmalar yapılmaktadır. Kemik iliğine alternatif olarak, göbek kordonu kanı, dalak, omurga ve fetal karaciğer, kök hücre kaynağı olarak gösterilebilir. Fakat göbek kordonu kanı, dalak, omurga ve fetal karaciğerde bulunan HKK ve progenitor hücre sayısı kemik iliğine göre daha azdır. Bu nedenle çalışmamızın amacı, dalak ve omurgadan elde edilen HKK'ler ile kök hücre transplantasyon yapılması ve HKK'lerin yerleşimi, hematopoiezin sağlanması ve farelerin sağ kalımının analiz edilmesidir.

Bu amaç doğrultusunda, HKK'lerin transplantasyon sonrası takip edilebilmesi için yeni keşfedilmiş HKK belirteci α -catulin yerine GFP knock-in yöntemi ile yerleştirilmiş transgenik fareler kullanılmıştır. Lineer parçacık hızlandırıcı ile optimize edilmiş lethal doza göre ışınlanarak, farelerin HKK'leri yok edilmiş ve sonrasında kemik iliği, dalak ve omurga hücreleri ile transplantasyon gerçekleştirilmiştir. CD48-/CD150+ ve C-KIT+/Sca1+ hücre popülasyonlarının frekansı değerlendirilmiş ve kemik iliği transplantasyonu gerçekleştirilmiş olan fareler ile karşılaştırma yapılmıştır. Aynı zamanda farelerin sağ kalım süreleri izlenmiştir.

Çalışmanın sonuçları dalak ve omurgadan elde edilmiş HKK'lerin kemik iliği transplantasyonu kadar etkili olduğunu göstermiştir. Dalak ve omurgada bulunan GFP+ HKK sayısı kemik iliğine göre daha az olsa da, dalak ve omurgadan izole edilmiş hücreler hematopoiezi sağlamayı başarmışlardır. Dahası, CD48-/CD150+ ve C-KIT+/Sca1+ hücre popülasyonlarının uzun süreli (>16 hafta) yer edindiği gözlemlenmiş ve farelerin de bu süreyle ilişkili olarak sağ kalım süreleri artış göstermiştir. Sonuç olarak, dalakta ve omurilikteki kan kök hücrelerinin hematopoiezi yeniden sağlayabilecek miktarda ve verimlilikte olduğu, ayrıca bu kan kök hücrelerinden farelerin yaşaması için gerekli olan tüm kan hücrelerinin üretilebildiği gösterilmiştir.

Long Term Hematopoietic Reconstitution by Spleen and Spinal Cord Stem Cells Transplantation in Transgenic Mouse Model

Deniz Altunsu¹, Seyma Çalış², Melih Acar¹, Timuçin Avşar¹

¹Bahçeşehir University, School of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey

²Istanbul Technical University, Institute of Science and Technology, Molecular Biology and Genetics Graduate Program, Istanbul, Turkey

Hematopoietic stem cells (HSCs) can give rise to all blood cell types which reside in the bone marrow. Bone marrow is the potential source of HSCs. It has recently been extensively evaluated with regards to its various stem cell populations, differentiation potentials and HSCs niches. As an alternative, umbilical cord blood (CB), spleen, spine and fetal liver are crucial and readily available stem cell resources. However, the number of resident hematopoietic stem cells and progenitor cells in CB, spleen, spine and fetal liver are very rare and low in number compared with bone marrow.

Aim of this study is to perform HSC transplantation with spleen and spine HSCs to compare HSC habitation, reconstitution of hematopoiesis and survival of mice. To this aim, -a novel HSC marker α -catulin- transgenic mice (1) were used as transplantation model which also bears a GFP knock-in to track hematopoietic stem cells after transplantation. Mice were irradiated eradicate HSCs with the optimized lethal dose by using linear accelerator and were transplanted with WBM, spleen and spinal cord cells. Frequency of CD48-/CD150+ and C-KIT+/Sca1+ cells populations were evaluated and compared with the WBM transplanted mice.

Results indicated that, transplantation with spleen and spine HSCs is effective as much as WBM transplantation. Although the number of GFP+ HSC is lower in spleen and spine compared to WBM, cells isolated from spleen and spine were able to reconstitute hematopoiesis.

Furthermore, long term (>16 weeks) reconstitution of CD48-/CD150+ and C-KIT+/Sca1+ cells populations were maintained and mice survived accordingly.

As a conclusion, for the first time spleen and spinal cord HSCs maintained long term reconstitution of blood cell subtypes and further those HSCs were showed to be capable of generating all blood cell subtypes.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ

HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ



PS – 022 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Mitokondriyal Genomda Saptanan Varyantlarının Değerlendirilmesinde Biyoinformatik Programların Kullanılmasının Önemi

Emine Begüm Genç Öncül

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye;
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Genetik Hastalıkları
Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

Mitokondriyal Hastalık (MH)'ler, yaklaşık prevalansı 1:5.000 olan ve metabolizma hastalıklarından en yaygın görülen doğumsal anomalilerdendir. Primer MH'ler, nükleer DNA (nDNA) ve mitokondriyal DNA (mtDNA)'daki mutasyonlarının sonucunda mitokondrinin yapısını veya fonksiyonunu etkileyen bozukluklar olarak tanımlanmaktadır. Yenidoğan ve çocuklarda solunum zinciri hastalıklarında mtDNA bozukları, hastalığın %10-20'sinden sorumludur. Mitokondriyal varyantlar için en iyi genotip-fenotip ilişkisinin kurulması kas biyopsisi veya fibroblast kültür örneğinden elde edilen DNA'nın sekanslanması sonucu tespit edilebilmektedir fakat MH'nin küçük yaşta ortaya çıkması, ağır seyrettiği durumlarda hastadan biyopsi yapma şansı olmaması ve çoğu zaman hastanın kısa sürede kaybedilmesi nedeniyle biyopsi yapılamamaktadır. Bu tür durumlarda hastanın ailesine genetik danışmanlık verilebilmesi ve hastalığın arka planının aydınlatılması için kesin sonuçlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Mitokondri genomunda saptanan varyantlar ilk olarak MITOMAP veri tabanında araştırılır. MITOMAP'ın yanı sıra nükleer genomda protein kodlayan genlerde saptanan değişikliklerin araştırılmasında kullanılan Polyphen-2, SIFT, Varsome gibi programlar da kullanılabilmektedir fakat bu programlar mitokondriyal varyantlardan Class-2, Class-3 olarak kabul edilen varyantların değerlendirilmesinde yeterli olmamaktadır. Çeşitli biyoinformatik programların bu varyantların değerlendirilmesinde kullanılması genotip fenotip korelasyonun tam olarak kurulamadığı hastalarda oldukça yardımcı olmaktadır. Mitokondriyal varyantlardan 13 protein kodlayan genlerde rastlanan ve patojenik etkisi tam belirlenemeyen değişiklikler, tahmini transmembranda proteinin görüntüsünü tahmin eden Protter, proteinin ikincil ve üç boyutlu yapısı üzerinde amino asit değişimin yaratacağı etki ile ilgili olarak tahmin yapılabilen Phyre2, yabanıl tip ve mutant için protein değişiminin hidrofobisite yönünden değerlendirilmesinin yapılabildiği ve proteine etkisini tahmin eden ExPASy-ProtScale programlarında değerlendirilebilir (Şekil 1, Şekil 2). tRNA varyantları içinse Yarham ve ark ve Sonney ve ark'ın skorlama tablo ve haritalarının kullanılmasına ilaveten RNA-fold web server'da tahmini sekonder yapının yabanıl tip ve mutant tRNA'lar için araştırılması, mamit-tRNA programında ise örnek bir tRNA üzerinde literatürde daha önce bildirilmiş patojenik bölgelerin gösterilmesi gibi tahmin programları kullanılabilir (Şekil 3, Çizelge 1). MH'lerde

saptanan ve kararsız kalınan varyantların değerlendirilmesinde bu bahsedilen programların kullanılması özellikle tüm ekzomları taranmış ve mitokondriyal varyanttan başka bir varyant saptanmayan durumlarda değişikliğin değerlendirilmesinde oldukça yardımcı olmaktadır.

The Importance of Using Bioinformatics Programs in the Evaluation of Variants Detected in Mitochondrial Genome

Emine Begüm Genç Öncül

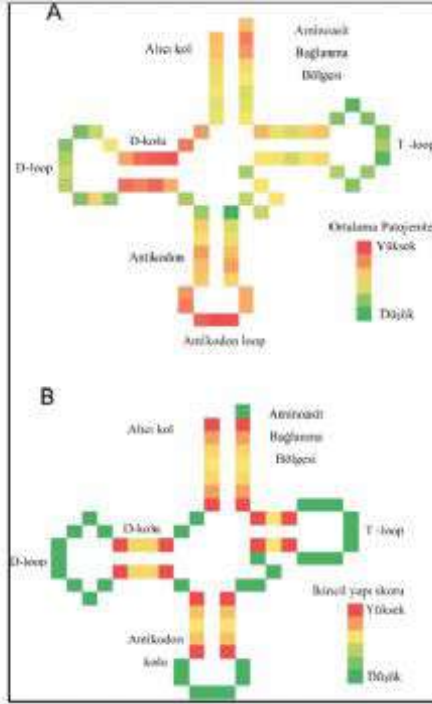
Ankara University Biotechnology Institute, Ankara, Turkey;
Division of Genetics, Department of Pediatrics, Ankara
University School of Medicine, Ankara, Turkey

Mitochondrial Diseases (MD) are among the most common congenital anomalies in metabolic disease with a prevalence of 1:5,000. In neonatal and pediatric respiratory chain diseases, mtDNA disorders are responsible for 10-20% of the disease. The best way of genotype-phenotype relationship for mitochondrial variants can be determined sequencing of DNA from muscle biopsy or a fibroblast culture sample. Biopsy cannot be performed most of the time due to the emergence of MD at a young age and often the patient is lost in a short time. In such cases, conclusive results are needed to provide genetic counseling to the family of the patient and to clarify the background of the disease. Variants detected in the mitochondrial genome are first investigated in the MITOMAP database. In addition to MITOMAP, programs such as Polyphen-2, SIFT, Varsome may also be used but these programs are not sufficient enough for evaluating variants considered Class-2, Class-3 from mitochondrial variants. Mitochondrial variant changes in the genes encoding 13 protein and pathogenetic effects cannot be determined precisely, these programs can be used; Protter, which predicts the appearance of protein in the predicted transmembrane, Phyre2, which can be predicted about the effect of amino acid change three-dimensional structure of the protein, protein exchange can be evaluated in terms of hydrophobicity which estimate its effect on protein in ExPASy-ProtScale programs (Figure1, Figure2). tRNA variants that unknown, in addition to the use of scoring tables and maps of Yarham et al. and Sonney et al., the investigation of the predicted secondary structure in the RNA-fold web server and mamit-tRNA for wild type and mutant tRNAs was previously reported in the literature as polymorphism or pathogenic can be used (Figure3, Table1). The usage of these programs to evaluate unknown variants detected in mitochondrial genome is particularly helpful in evaluating the variant, especially in cases where all exomes have been screened and no changes other than the mitochondrial variant have been detected.



PS – 022 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Şekil 3. Sonney ve ark'ın geliştirmiş olduğu tahmini tRNA patojenite puanlama haritası (8)
Figure 3. Estimated tRNA pathogenicity scoring map developed by Sonney et al. (8)





TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 022 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Çizelge 1. Yarham ve ark'ın tRNA patojenite puanlama tablosu (9)

Madde	Puanlama Kriteri	Puan/20
1	Birden fazla raporlanmış olma	Evet 2 Hayır 0
2	Baz/Baz çiftinin evrimsel olarak korunmuşluğu	Bir baz değişimi 2 İki baz değişimi 1 Çoklu baz değişimi 0
3	Varyant heteroplazmisi	Evet 2 Hayır 0
4	Mutasyonun hastalıkla segregasyonu	Evet 2 Hayır 0
5	Mitokondriyal hastalıkla histokimyasal olarak ilişkisi	Güçlü kanıt 2 Zayıf kanıt 1 Veri yok 0
6	Kompleks 1, III ve IV genlerinde biyokimyasal defekt	Evet 2 Hayır 0
7	Mutasyonun biyokimyasal defekt ile segregasyonun kanıtı olan çalışmalar	Evet 3 Hayır 0
8	Mutant mt-tRNA kararlılığındaki değişim veya trans-mitokondriyal sibrid çalışmalarda patojenite kanıtı	Evet 5 Hayır 0 Toplam puan 20 üzerinden; • <6 puan: Nötr polimorfizm • 7-10 patojenik olabilir • 11-13: muhtemelen patojenik (7. ve 8. Maddeden puan almamışsa) • >11: kesin Patojenik (7 ve 8. Maddeden puan almışsa)



PS – 022 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Table 1. Yarham et al. tRNA pathogenicity scoring table (9)

Article	Scoring criteria	Score/20
1	More than one independent report	Yes 2 No 0
2	Evolutionary conservation of the base or base-pair	One change 2 Two changes 1 Multiple 0
3	Variant heteroplasmy	Yes 2 No 0
4	Segregation of the mutation with disease	Yes 2 No 0
5	Histochemical evidence of mitochondrial disease	Strong evidence 2 Weak evidence 1 No evidence 0
6	Biochemical defect in complexes I, III, or IV	Yes 2 No 0
7	Evidence of mutation segregation with biochemical defect from single-fiber studies	Yes 2 No 0
8	Mutant mt-tRNA steady-state level studies or Evidence of pathogenicity intrans-mitochondrial cybrid studies	Yes 5 No 0 Total 20 points; • ≤6 points—neutral polymorphisms • 7–10 points—possibly pathogenic • 11–13 points (not including evidence from single fiber, steady-state level, or trans-mitochondrial cybrid studies)—probably pathogenic • ≥14 points (including evidence from single fiber, steady-state level or trans-mitochondrial cybrid studies)—definitely pathogenic



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 025 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Leigh Sendromu (LS) Ön Tanılı Bir Hastada Olası Genetik Etmenlerin Araştırılması

Emine Begüm Genç Öncül¹, Duygu Duman², Tuba Eminoglu³, Süleyman Aktuna⁴, Mustafa Türker Duman⁵

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye;
²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Genetik Hastalıkları Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Odyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

⁴Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Metabolizma Hastalıkları Bölümü, Ankara, Türkiye

⁵Mikrogen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi, Ankara, Türkiye

⁶Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Metabolizma Hastalıkları Kliniğinde Leigh Sendromu (LS) ön tanısıyla takipli 1 yaşında erkek hastanın hastalığın genetik arka planını aydınlatmak ve kesin tanı alması adına yapılan tüm ekzom ve mitokondrial genom tarama sonuçları tartışılmıştır.

Olgu: Laktat/pürivat oranı yüksekliği, kranial MR’ında bazal gangliyonda tutulum, epilepsi öyküsü, distoni, hipotoni, konuşma bozukluğu, gelişme geriliği bulguları olan hasta LS ön tanısıyla takip edilmektedir, anne baba arasında akrabalık bulunmamaktadır (Şekil 1.). Hasta ve ailesinin tüm ekzom tarama (NGS, Illumina-MiSeq) sonucunda COX15 (NM_0784705) geninde c.664 homozigot C>T Arg222Cys değişimi saptanmıştır. Saptanan varyant aile bireyleriyle birlikte ilgili bölgenin geri primeri kullanılarak Sanger ile doğrulanmıştır (Şekil 2.A.). Hastanın asemptomatik annesi bu varyant açısından homozigot, babası ise heterozigot olarak tespit edilmiştir. Bu analize ek olarak tüm mitokondrial genom taraması yapılmış ve m.1646 pozisyonu, mt-TV geninde T>C heteroplazmik (%37) varyantı tespit edilmiştir. T1646C varyantı aynı zamanda hastanın annesinde de heteroplazmik olarak saptanmıştır (Şekil 2.B.).

Sonuç: COX15 geninde saptanan farklı varyantlar daha önce LS’yle ilişkilendirilmekle birlikte c.664 C>T varyantının Japon popülasyonunda 0,0236 oranında görüldüğü rapor edilmiştir (<http://exac.broadinstitute.org/>). Varyantın asemptomatik annede homozigot olarak saptanması ve ayrıca Japon popülasyonunda görülme sıklığı nedeniyle hastalık etmeni olduğu düşünülmektedir. Hastanın mitokondrial genom taramasında tespit edilen m.1646 mt-TV T>C heteroplazmik (%37) varyantı ise literatürde daha önce hastalıkla ilişkili olarak rapor edilmemiştir. Saptanan bu varyant biyoinformatik veritabanlarında ikincil yapıyı değiştirmediği gözükmemekte ve polimorfizm olarak rapor edilmekle birlikte, %86,67’lik bir oranda evrimsel olarak korunmuş bölgede yer almaktadır (Şekil 3.A.). Daha önce bu bölgeye oldukça yakın bölgede yer alan m.1644 pozisyonunda G>A değişimi LS, Hipertrofik kardiyomiopati, MELAS ile Class 1 patojenik olarak onaylanmıştır (Şekil 3.B.). Bu bilgiler ışığında hastanın

tüm ekzom tarama sonuçlarında saptanan varyantın patojenik olarak değerlendirilmemesi ve mitokondrial genomda saptanan varyant her ne kadar polimorfizm olarak değerlendirilse de bu varyantın patojenik olabileceği düşünülmektedir. Kesin sonuçlar için hastanın aile bireyleri ile birlikte kas biyopsisi, fibroblast kültürü veya etkilenmiş dokularından NGS taraması gerekmektedir. Bunun dışında genomda, intronlarda meydana gelen değişikliklerin de hastalık etmeni olabileceği düşünülmektedir.

Investigation of Possible Genetic Factors in a Patient with pre-diagnosis of Leigh Syndrome (LS)

Emine Begüm Genç Öncül¹, Duygu Duman², Tuba Eminoglu³, Süleyman Aktuna⁴, Mustafa Türker Duman⁵

¹Ankara University Biotechnology Institute, Ankara, Turkey;
²Division of Genetics, Department of Pediatrics, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

³Ankara University Faculty of Health Sciences Department of Audiology, Ankara, Turkey

⁴Ankara University Faculty of Medicine Department of Pediatric Metabolism, Ankara, Turkey

⁵Mikrogen Genetic Diagnostic Laboratory, Ankara, Turkey

⁶Ankara University Faculty of Science Department of Biology Division of Molecular Biology, Ankara, Turkey

Objective: All exome and mitochondrial genome screening results of a 1-year-old male patient followed by a pre-diagnosis of Leigh Syndrome (LS) in Ankara University Faculty of Medicine Pediatric Metabolic Diseases Clinic were discussed in order to enlighten the genetic background of the disease.

Case: In the patient and family whole exome screening (NGS, Illumina-MiSeq) Results: COX15 (NM_0784705) gene c.664 homozygous C>T Arg222Cys variant was detected. In addition to this analysis, the entire mitochondrial genome was screened and the position m.1646, T>C heteroplasmic (37%) variant was detected in the mt-TV gene. The T1646C variant was also heteroplasmic in the mother of the patient (Figure 2.B.).

Conclusion: Although different variants detected in the COX15 gene were previously associated with LS, it was reported that this variant was seen in the Japanese population at a rate of 0.0236

(<http://exac.broadinstitute.org/>). Because of variant homozygous detection of the asymptomatic mother and also the incidence of the Japanese population, it is not thought to be due to the disease. The m.1646 mt-TV T>C heteroplasmic variant (37%), detected in the patient as a result of mitochondrial genome screening, has not been previously reported in the literature. This variant does not seem to change the secondary structure in bioinformatics databases and is reported as polymorphism, but it is located in an evolutionarily preserved region at a rate of



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

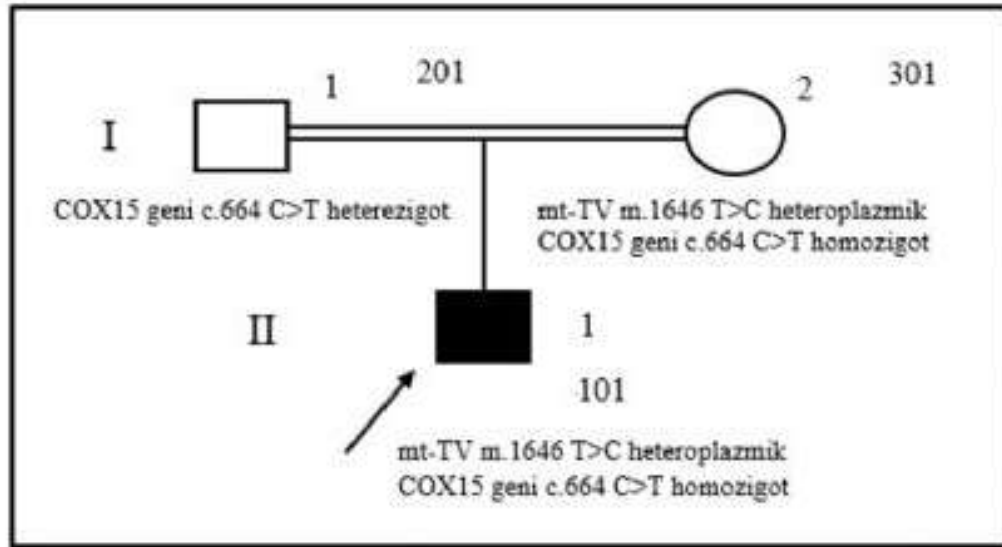


PS – 025 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

86.67% (Figure 3.A.).Previously, G>A change in position m.1644, located very close to this region, was confirmed as pathogenic Class-1 with LS,Hypertrophic cardiomyopathy, MELAS(Figure 3.B.). Although the variant that detected in mitochondrial genome is evaluated as polymorphism, it is thought to be that the variant may be pathogenic. For definite results, screening of NGS from muscle biopsy, fibroblast culture or affected tissue specimens together with the family members of the patient is required.In addition, changes in introns are thought to be the possible causative factor.

Şekil 1. LS ön tanısı ile takipli hastanın aile ağacı
Figure 1. Family tree of the patient with a pre-diagnosis

of LS
Hata!



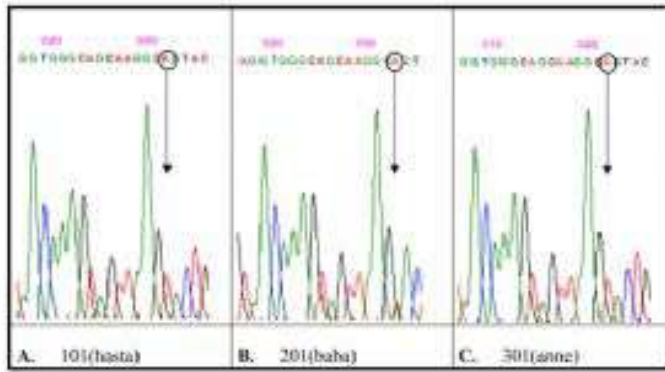


PS – 025 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

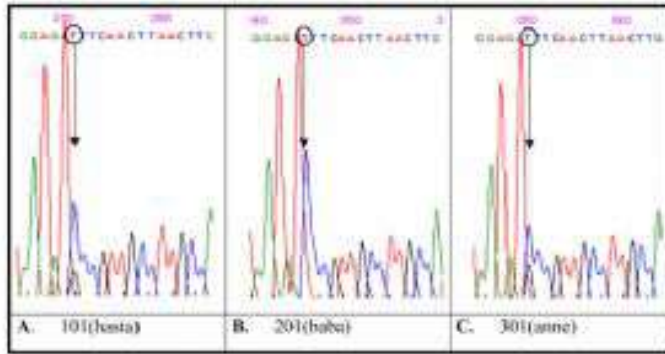
Şekil 2.A. 101 (A), 201 (B) ve 301 (C) nolu bireylere ait COX15 c.664 C>T varyantının Sanger sekans sonucu; Şekil 2.B. 101 (A), 201 (B), 301 (C) nolu bireylere ait mt-TV m.1646 T>C varyantının Sanger sekans sonucu

Figure 2.A.Results of Sanger sequencing results of COX15 c.664 C> T variant for 101 (A), 201 (B) and 301 (C); Figure 2B.

Sanger sequencing results for 101 (A), 201 (B), 301 (C) for mt-TV m.1646 T>C



Şekil 2.A. 101 (A), 201 (B) ve 301 (C) nolu bireylere ait COX15 c.664 C>T varyantının geri primerle sekanslanmış homözigot Sanger sekans sonucu

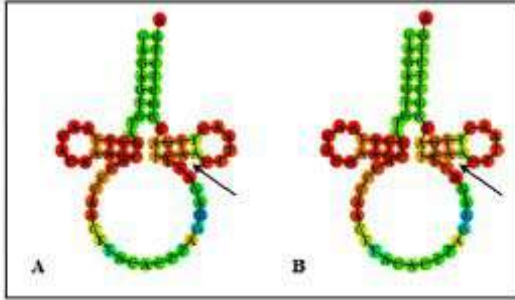


Şekil 2.B. 101 (A), 201 (B), 301 (C) nolu bireylere ait mt-TV m.1646 T>C varyantının heteroplazmik Sanger sekansı sonucu

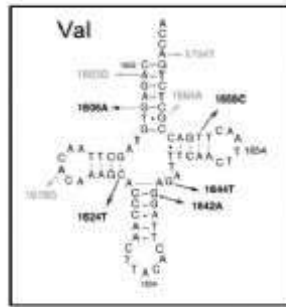


PS – 025 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Şekil 3.A. RNA fold web server’da değerlendirilen yabanıl tip (A) ve mutant T1646C (B) tRNA-Valin ikincil yapıları; Şekil 3.B. tRNA-Valin ikincil yapısı (gri noktalar polimorfizmi gösterirken, siyah noktalar patojenik mutasyonları göstermektedir).
Figure 3.A. Secondary structures of wild type (A) and mutant T1646C (B) tRNA-Valine evaluated in RNA fold web server;
Figure 3.B.tRNA-Valine secondary structure (gray dots indicate polymorphism, while black dots indicate pathogenic mutations).



Şekil 3.A. RNA fold web server’da değerlendirilen yabanıl tip (A) ve mutant T1646C (B) tRNA-Valin ikincil yapıları



Şekil 3.B. tRNA-Valin ikincil yapısı (gri noktalar polimorfizmi gösterirken, siyah noktalar patojenik mutasyonları göstermektedir).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 017 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

İdiyopatik oligospermilerde NFKB1 rs28362491 varyasyonlarının E-kaderin ekspresyonu üzerine etkisi

Matem Tunçdemir¹, Güven Yenmiş², Fatma Kübra Tombultürk¹, Fatma Kübra Tombultürk³, Hülya Arkan¹, Tuğba Soydaş¹, Tuğba Soydaş⁴, Hamdi Özkara⁵, Gönül Kanıgür Sultuybek⁴

¹*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*Acıbadem LABGEN Genetik Tanı Merkezi, Acıbadem Üniversitesi, İstanbul*

³*İstinye Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, İstanbul*

⁴*Istanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

⁵*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: İdiyopatik erkek infertilite vakalarının önemli bir kısmını oligospermi vakaları oluşturur ve yine, bu sorunun altında yatan fertilizasyon probleminin moleküler mekanizmaları hala belirsizdir. Kalsiyum bağımlı Epitelyal-kaderin (E-kaderin) hücre-hücreye adezyon etkileşimlerinde görevli olmasına rağmen; gamet etkileşimindeki mekanizması tam olarak araştırılmamıştır. Çalışmanın amacı, oligospermik erkek hastalarda Nükleer Faktör Kappa-B1 (NF-kB1) tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) varyasyonuna dayalı olarak E-kadherin ekspresyonundaki değişiklikleri araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Vaka-kontrol çalışmasında, vaka grubu olarak 131 oligospermik erkeğin semen ve kan örnekleri ile kontrol grubu olarak 239 fertil sağlıklı erkeğin analizi yapıldı (Tablo 1). İnfertilite değerlendirmesi için çalışma popülasyonu, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Androloji Kliniğine başvuran erkeklerden oluşturuldu (Etik Kurul Onay Numarası 83045809/14878). Varyantlar tek nükleotid polimorfizmi rs28362491, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)-restriksiyon fragment uzunluğu polimorfizm (RFLP) yöntemi kullanılarak yapıldı. E-kadherin ekspresyonu, immünohistokimya metodu ile belirlendi. E-kadherin ekspresyonu, immünohistokimya metodu ile belirlendi. İstatistiksel analiz SPSS 18.0 versiyonu kullanılarak yapıldı ve istatistiksel anlamlılık ölçütü olarak $p < 0.05$ alındı.

Bulgular: İdiyopatik oligospermi için rs28362491'in ins / ins genotipi 1,73 kat ($p = 0.0218$) ile risk faktörü olarak tespit edilmiş (Figür 1, Tablo 2). Ek olarak, ins / ins genotipli oligospermik erkeklerde E-kadherin ekspresyonu, del / ins genotipli hastalardan anlamlı derecede düşüktü ($p = 0.0221$). E-kadherin ekspresyon düzeyi, NFKB1 geninin ins / ins genotipinin varlığında kontrol grubuna göre oligospermik erkeklerde dramatik olarak daha düşüktü (Figür 2, Tablo 3).

Sonuç: Bu sonuçlar ins allelinin, yüzey proteinlerinin

spermatozoaya bağlanmasını önlediğini ve oligospermik erkeklerde sperm-oosit etkileşiminin düşük afinitesine yol açtığını göstermektedir. Ayrıca, promotör bölgedeki ins / ins ve del / del genotipleri, E-kadherinin düşük eksprese olduğu durumlarda oligospermik erkek kısırlığına duyarlılıkta NFKB1 muhtemel bir rol oynayabilir.

NFKB1 rs28362491 SNP on E-Cadherin expression in case of idiopathic oligospermia

Matem Tunçdemir¹, Güven Yenmiş², Fatma Kübra Tombultürk¹, Fatma Kübra Tombultürk³, Hülya Arkan¹, Tuğba Soydaş¹, Tuğba Soydaş⁴, Hamdi Özkara⁵, Gönül Kanıgür Sultuybek⁴

¹*Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Medical Biology, İstanbul*

²*Acıbadem LABGEN Genetic Diagnostic Center, Acıbadem University, İstanbul*

³*İstinye University, Vocational School of Health Services, Medical Laboratory Techniques, İstanbul*

⁴*Istanbul Aydın University, Medical Faculty, Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul*

⁵*Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Urology, İstanbul*

Objective: A notable proportion of idiopathic male infertility cases is accompanied by oligozoospermia; and yet, the molecular mechanisms of fertilization problem underlying this defect are still unclear. Epithelial cadherin has been involved in several calcium-dependent cell-to-cell adhesion events; however, its participation in gamete interaction has also not been fully investigated. The aim was to investigate the changes in the expression of E-cadherin, based on the frequency of Single nucleotide polymorphism (SNP) in Nuclear Factor Kappa-B 1 in oligospermic men.

Materials-Methods: In this case-control study, semen and blood samples of 131 oligospermic men as the case group and 239 fertile healthy men as the control group were analyzed (Table 1). The study population consisted of men who attended the Andrology Clinics of Urology Department, Cerrahpaşa Medical Faculty of İstanbul University for infertility evaluation (Ethics Committee Approval Number 83045809/14878). Variants single nucleotide polymorphism rs28362491 was performed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method and E-cadherin expression were determined by immunocytochemistry studies. Statistical analysis was performed using the SPSS 18.0 software and $p < 0.05$ was used as the criterion of statistical significance.

Results: ins/ins genotype of rs28362491 was determined as a risk factor for idiopathic oligospermia by 1.73 times ($p=0.0218$) (Figure 1, Table 2). In addition, E-cadherin expression of oligospermic men with ins/ins



PS – 017 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

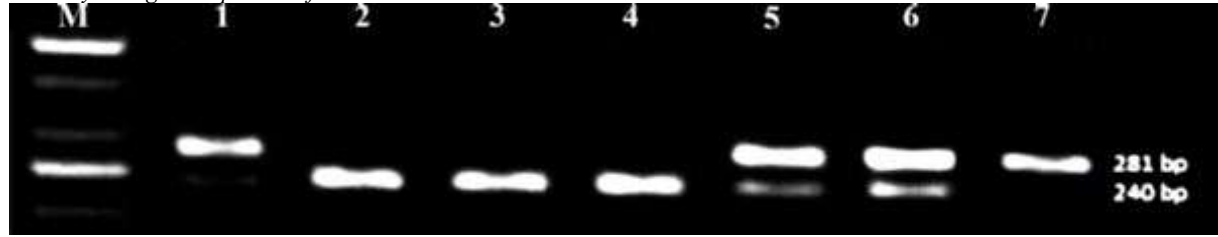
genotype was significantly lower than patients with del/ins genotype ($p=0.0221$). E-cadherin expression level was low in oligospermic men with respect to the control group in presence of ins/ins genotype of NFKB1 gene (Figure 2, Table 3).

Conclusion: These results suggest that ins allele prevents binding of surface proteins to spermatozoa, leading to a low affinity of sperm-oocyte interaction in oligospermic men. Moreover, ins/ins and del/del genotypes in the promoter region, NFKB1 is likely to play a role in the

susceptibility to oligospermic male infertility in the context of low E-cadherin expression.

rs28362491'in enzim kesim paterni.

The enzyme digestion pattern of rs28362491.



M, Marker (50-bp); 5 ve 6. kuyucuklar heterozigot ins/del ATTG; 2, 3 ve 4. kuyucuklar homozigot ins/ins ATTG; 1 ve 7. kuyucuklar homozigot del/del ATTG.

M is 50-bp size marker; Lane 5 and 6 are heterozygous ins/del ATTG; Lane 2, 3 and 4 are homozygous ins/ins ATTG; Lane 1 and 7 are del/del ATTG homozygous.

Çalışmaya dahil edilen fertil kontroller ve infertil erkeklerin klinik özellikleri

	Oligospermik vaka grubu (n=131)	Kontrol grubu (n=239)	p değeri
Yaş (Yıl)	33.03 ± 5.24	30.75 ± 9.356	0.0783
Sperm konsantrasyonu (x10 ⁶ /ml)	4.79 ± 4.12	34.93 ± 26.40	<0.0001
Sperm motilitesi (%)	24.62 ± 20.56	41.89 ± 19.38	0.0016
Sperm morfolojisi (%)	3.56 ± 3.38	7.556 ± 4.878	0.0021
Sağ testis hacmi (R)	13.63 ± 6.05	15.61 ± 9.562	0.8693
Sol testis hacmi (L)	14.04 ± 6.27	15.72 ± 8.870	0.9011

Veriler ortalama ± SD olarak gösterildi. Gruplar Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Clinical feature of infertile mens and fertile controls included in study.

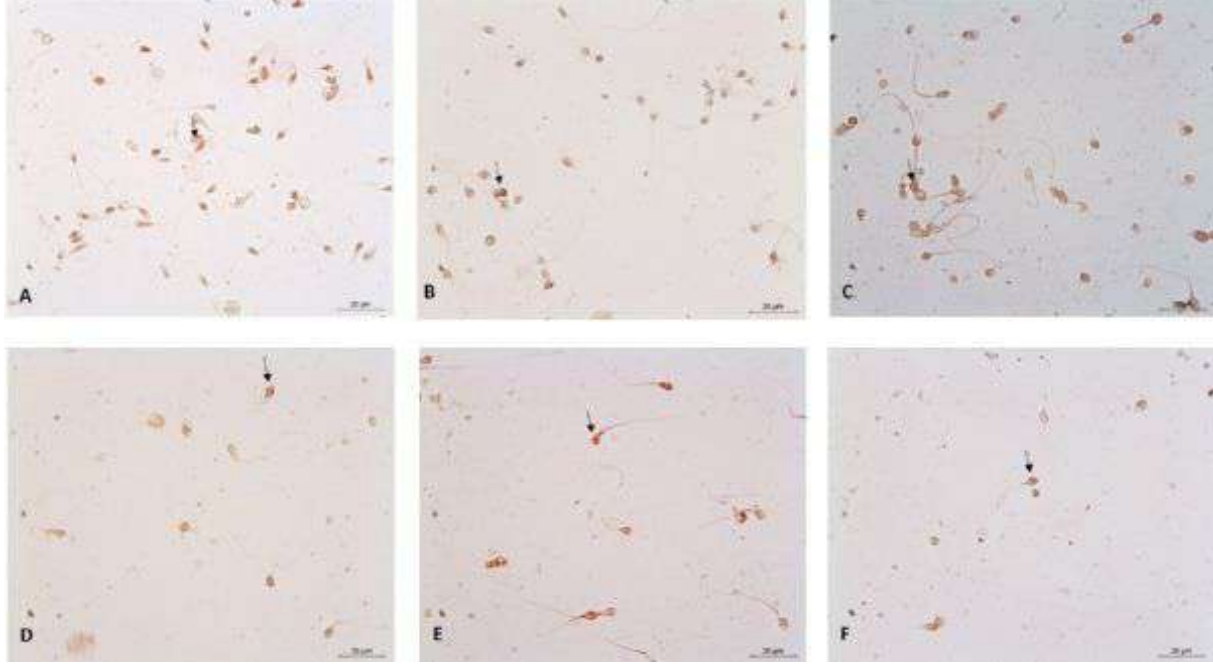
	Oligospermic case group (n=131)	Control group (n=239)	P-value
Age (years)	33.03 ± 5.24	30.75 ± 9.356	0.0783
Sperm Concentration (x10 ⁶ /ml)	4.79 ± 4.12	34.93 ± 26.40	<0.0001
Sperm motility (%)	24.62 ± 20.56	41.89 ± 19.38	0.0016
Sperm morphology (%)	3.56 ± 3.38	7.556 ± 4.878	0.0021
Testicular Volume Right (R)	13.63 ± 6.05	15.61 ± 9.562	0.8693
Testicular Volume Left (L)	14.04 ± 6.27	15.72 ± 8.870	0.9011



PS – 017 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Data are shown as mean±SD. Groups were compared by Mann Whitney U test.

E-kaderinin immünoreaktivitesi.
Immunoreactivity of *E*-cadherin.



Kontrol grubu ins/ins (A), del/ins (B) ve del/del (C). Vaka grubu; ins/ins (D), del/ins (E) ve del/del (F). Kırmızı boyalı hücreler: *E*-kadherin (+) spermier (↑). Arkaplan: Metil yeşili - Bar: 20μm.
Control groups ins/ins (A), del/ins (B) and del/del (C). Case group; ins/ins (D), del/ins (E) and del/del (F). Red staining cells: *E*-cadherin (+) sperms (↑). Background: Methyl green- Bar: 20μm.

Oligospermik erkeklerde ve fertil kontrollerde SNP rs28362491 genotip ve alel frekanslarının dağılımı.

rs28362491	Oligospermik vaka grubu, n=131 (%)	Kontrol grubu, n=239 (%)	OR (%95 CI)	p değeri
ins/ins	51 (38.9)	67 (28)	1	Ref
del/ins	61 (47.3)	141 (59)	1.1731 (1.081-2.773)	0.0218
del/del	18(13.8)	31 (13)	1.311 (0.6604 - 2.603)	0.5469
Dominant model ((ins/ins+del/ins) vs del/del)			0.9356 (0.5011 - 1.747)	0.9613
Resesif model (ins/ins vs (del/ins+del/del))			1.637 (1.043-2.568)	0.0315
ins aleli	164(62.6)	275 (57.5)	1	Ref
del aleli	98(37.4)	203 (42.5)	1.235 (0.9068 - 1.683)	0.1799

Veriler n (%) olarak sunuldu. Gruplar χ^2 analizi ve Yates'in Süreklilik Düzeltmesi ile karşılaştırıldı. Genotiplerden kaynaklanan farklılıklar, χ^2 analizi ve Yates'in Süreklilik Düzeltmesi ile belirlendi.



PS – 017 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Distribution of genotype and allele frequencies of SNP rs28362491 in oligospermic men and fertile controls.

rs28362491	Oligospermic case group, n=131 (%)	Control group, n=239 (%)	OR (%95 CI)	p-value
ins/ins	51 (38.9)	67 (28)	1	Ref
del/ins	61 (47.3)	141 (59)	1.1731 (1.081-2.773)	0.0218
del/del	18(13.8)	31 (13)	1.311 (0.6604 -2.603)	0.5469
Dominant model ((ins/ins+del/ins) vs del/del)			0.9356 (0.5011 - 1.747)	0.9613
Recessive model (ins/ins vs (del/ins+del/del))			1.637 (1.043-2.568)	0.0315
ins allele	164(62.6)	275 (57.5)	1	Ref
del allele	98(37.4)	203 (42.5)	1.235 (0.9068 - 1.683)	0.1799

Data presented as n (%). Groups were compared by analysis and Yates's Continuity Correction. The differences resulting from the genotypes were determined by proceeding χ^2 analysis and Yates's Continuity Correction.

Oligospermik vaka grubunda E-kaderin ekspresyonunun NFKB1 rs28362491'in genotiplerine göre değerlendirilmesi.

NFKB1 -94 ins/del ATTG genotipi	Oligospermik vaka grubu, n (%)	E-kaderin ekspresyonu
ins/ins	51 (39)	1.28 ± 0.90
del/ins	62 (47)	2.5 ± 1.08 *
del/del	18 (14)	1.21 ± 0.56

Gruplar One-way ANOVA ve Tukey'nin HSD Post hoc testleri ile karşılaştırıldı. Veriler Ortalama ± SD olarak gösterilmiştir. * $p = 0.0221$ ins / ins vs. del / del.

Evaluation of E-cadherin expression according to the genotypes of NFKB1 rs28362491 in oligospermic case group.

Genotypes of NFKB1 -94 ins/del ATTG	Oligospermic case group, n (%)	E-cadherin expression
ins/ins	51 (39)	1.28 ± 0.90
del/ins	62 (47)	2.5 ± 1.08 *
del/del	18 (14)	1.21 ± 0.56

Groups were compared by One-way ANOVA and Tukey's HSD Post hoc tests. Data are shown as Mean ± SD. * $p = 0.0221$ ins/ins vs. del/del.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 018 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Urge urinar incontinanslı (UII) hastalardaki uterosakral ligamanlarda TGFB, SMAD yolağındaki gen ekspresyonlarının analizi

Melike Nur Akın¹, Akın Sivashioğlu¹, Burcu Kasap¹, Sevim Karakaş Çelik³, Tuba Gökdoğan Edgünlü²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

³Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD

Amaç: Kadınlarda en sık görülen idrar kaçırma türlerinden biri Urge urinar incontinans (UII) hastalığıdır. Menopozdan sonra, östrojen üretimi azalır ve bazı kadınlarda üretranın dokusunun zayıflaması ve incelmeleri atrofie gözlenir. TGFB/SMAD yolağının kollojen sentezi üzerindeki etki mekanizması bizi UII hasta grubunda bu yolağın etkisini araştırmaya yönlendirdi. Amacımız, UII hastalarda ve kontrol bireylerde uterosakral ligamentdeki (USL) TGFB, SMAD2, SMAD3 gen ekspresyonları düzeylerini ve ELISA analizleri ile protein düzeylerini tespit etmektir. **Gereç-Yöntem:** UII hasta grubu ve benign nedenlerle histerektomi yapılmış kontrol grubundan alınan USL dokuları mRNA ve protein ekspresyonu tesbiti için -20°C'de saklandı. Gen ekspresyonu için, RNA later içinde bekletilmiş dokudan kit yöntemi ile total RNA izolasyonu yapıldı. Sonrasında cDNA sentez kiti yardımıyla cDNA elde edildi. TGFB1, SMAD2 ve SMAD3 genleri ve endojen kontrol (rölatif gen) olarak da beta-aktin geni çalışılarak gen ekspresyon düzeyleri QPCR yöntemi ile tespit edildi. Ayrıca TGFB1, SMAD2 ve SMAD3 protein düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: USL'de SMAD2, SMAD3, TGFB1 mRNA ekspresyon seviyeleri belirlendi. UII hastalarında SMAD3 ve TGFB1 gen ekspresyon seviyelerinin kontrol USL dokusu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığını gösterdik. Ayrıca, ELISA sonucunda SMAD2, SMAD3, TGFB1 protein seviyeleri UII ve kontrol gruplarında farklılık tespit edilmedi.

Sonuç: Elde edilen veriler ışığında SMAD3 ve TGFB1 gen ekspresyon seviyelerindeki azalmanın kolajen düzeyindeki azalışa etki etmiş olabileceği ve UII hastalık patolojisinde belirgin bir biyomarker aday olarak gösterilebileceği tespit edilmiştir.

Analysis of gene expression in TGFB, SMAD pathway in uterosacral ligaments in patients with Urgency urinary incontinence (UII)

Melike Nur Akın¹, Akın Sivashioğlu¹, Burcu Kasap¹, Sevim Karakaş Çelik³, Tuba Gökdoğan Edgünlü²

¹Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology

²Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

³Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Department of Medical Genetic

Objective: The most common types of urinary incontinence in women is urge urinary incontinence (UII). After menopause, estrogen production decreases and in some women urethral tissue will demonstrate atrophy with the tissue of the urethra becoming weaker and thinner. The mechanism of action of TGFB/SMAD pathway on collagen synthesis led us to investigate the effect of this pathway on urinary incontinence patients. TGFB1, SMAD2 and SMAD3 gene expressions. The aim of our study is to determine the molecular effects of UII patients by TGFB, SMAD2 and SMAD3 gene expressions and ELISA analysis.

Materials-Methods: The uterosacral ligament (USL) tissues from UII and control groups were stored at -20 °C for further processing. Total RNA isolation was performed by kit method for gene expression analysis. The cDNA was then obtained with the cDNA synthesis kit. The gene expression levels were determined by QPCR of the TGFB1, SMAD2 and SMAD3 genes and beta-actin gene as endogenous control. In addition, TGFB1, SMAD2 and SMAD3 protein levels were determined by ELISA method.

Results: We have determinate the mRNA expression levels of SMAD2, SMAD3, TGFB1 in USL of UII and control groups. We have shown that in UII patients SMAD3 and TGFB1 gene expression levels are significantly decreased, compared with control USL tissue. Also, SMAD2 mRNA levels were not differences in UII and control groups. We have not found any differences protein levels of SMAD2, SMAD3 and TGFB1 levels in UII and control groups by ELISA.

Conclusion: In the light of the obtained data, it was determined that the decrease in SMAD3 and TGFB1 gene expression levels may have effected the decrease in collagen level and could be shown as a prominent biomarker candidate in the pathology of the UII disease.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 019 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Tip 2 Diyabetiklerde Kognitif Disfonksiyonu Olanlarda ve Olmayanlarda ICAM-1, VCAM-1, FGF-21, Human Platelet Selectin (P-Selectin/cd62p) ve Human APRIL Düzeylerinin Karşılaştırılması

Eda Tayfur¹, Emine Sumru Savaş², Zeliha Fulden Saraç², Selahattin Fehmi Ayçiçek², Dilek Evyapan Akkuş³, Ahmet Acarer³, Sibel Akbaş², Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Tip 2 Diabetes mellitus (T2DM) ile ortaya çıkan glikoz toksisitesi, kardiyovasküler risk faktörleri, insülin duyarlılığındaki değişimler, insülin direnci gibi faktörler periferik dokuları ve damarları etkiler, inflamatuvar yanıtla yol açar ve aterosklerotik süreci başlatır. Kronikleşen bu aterosklerotik sürecin sonucunda ortaya çıkan komplikasyonların yaklaşık %40'ını bilişsel işlev bozuklukları (Cognitive Dysfunction/CD) oluşturur. Çalışmamızda aterosklerotik sürece yanıt olarak eksprese olan VCAM-1, ICAM-1, P-selectin, FGF-21 ve Human APRIL moleküllerinin ekspresyonu incelenerek bu iki hastalığın patogenezinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Ege Üniversitesi İç Hastalıkları ABD, Geriatri ve Nöroloji polikliniğine başvuran hastalara Mini Mental Değerlendirme Testi uygulanarak CD'si olan (40 olgu) ve olmayan (40 olgu) T2DM'li toplam 80 olgudan oluşan iki çalışma grubu oluşturuldu. Grupların serum örneklerinden, ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak VCAM-1, ICAM-1, P-Selectin, FGF-21, APRIL seviyeleri belirlendi. Grupların karşılaştırılması, sürekli değişkenleri parametrik olanlar için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), nonparametrikler için Mann-Whitney-U test ve kesikli gruplar için ise χ^2 , Fisher's exact test, Odds Ratio (OR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) kullanılarak hesaplandı.

Bulgular: Yalnızca diyabeti ve diyabet ile CD'si olan grupların ortalamaları sırasıyla VCAM-1 için 699,4±129,6 ng/ml, 973,8±650,7 ng/ml; ICAM-1 için 351,6±76,1 ng/ml, 578,1±440,6 ng/ml; P-selektin için 101,3±25,3 ng/ml, 103,3±88,5 ng/ml; FGF-21 için 316,4±62,8 pg/ml, 450,1±286,1 pg/ml; APRIL için 13,7±3,18 ng/ml, 17,7±10,3 ng/ml dir.

Diyabet ve CD grubunda, diyabet grubuna göre VCAM-1 için 1,4 katlık ($p<0,017$), ICAM-1 için 1,6 ($p<0,004$), FGF-21 için 1,4 ($p<0,009$), APRIL için 1,3 katlık anlamlı bir artış bulunmaktadır ($p<0,028$). P-selektin ortalaması açısından anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,898$).

Sonuç: T2DM ve CD'nin görülme sıklığı göz önüne alındığında, aterosklerotik süreçte eksprese olan bu moleküllerin tanımlanması hastalığın patogenezinin anlaşılmasında önem teşkil etmektedir. Diyabet ve CD'si olan olgularda, diyabet grubuna göre, ICAM-1, VCAM-1, FGF-21, APRIL seviyelerinde gözlemlenen anlamlı artışın, tedavi için yeni stratejilerin geliştirilmesini mümkün kılacağı düşünülmektedir.

Comparison of VCAM-1, ICAM-1, P-Selectin, FGF-21, Human APRIL Levels of Patients with Cognitive Dysfunction and non-Cognitive Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus

Eda Tayfur¹, Emine Sumru Savaş², Zeliha Fulden Saraç², Selahattin Fehmi Ayçiçek², Dilek Evyapan Akkuş³, Ahmet Acarer³, Sibel Akbaş², Cumhuriyet Gündüz¹

¹Department of Medical Biology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir

²Department of Internal Medicine, Ege University Faculty of Medicine, İzmir

³Department of Neurology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir

Objective: Factors such as glucose toxicity associated with Type 2 Diabetes mellitus (T2DM), cardiovascular risk factors, changes in insulin sensitivity, insulin resistance affect peripheral tissues and vessels, cause inflammatory responses and initiate the atherosclerotic process. Cognitive dysfunction (CD) constitutes approximately 40% of the complications resulting from this chronic atherosclerotic process. This study, the expression of VCAM-1, ICAM-1, P-selectin, FGF-21 and APRIL molecules expressed in response to atherosclerotic processes was investigated and the pathogenesis of two diseases was aimed to be clarified.

Material-Methods: Two groups of 80 patients with T2DM (40 cases) with and without CD (40 cases) were formed by applying Mini Mental Assessment Test to the patients admitted to Ege University Department of Internal Medicine, Geriatrics and Neurology outpatient clinic. VCAM-1, ICAM-1, P-Selectin, FGF-21, APRIL levels were determined from the serum samples of the groups using commercial kit by ELISA method. Comparison of the groups was done with one-way analysis of variance (ANOVA) for continuous variables parametric, Mann-Whitney-U test for nonparameters, χ^2 for discrete groups, Fisher's exact test, Odds Ratio (OR) and 95% confidence interval (95% CI).

Results: Averaged of diabetic and diabetic+CD groups were, respectively, 699.4±129.6 ng/ml, 973.8±650.7 ng/ml for VCAM-1; 351.6±76.1 ng/ml for ICAM-1, 578.1±440.6 ng/ml; 101.3±25.3 ng/ml, 103.3±88.5 ng/ml for P-selectin; 316.4±62.8 pg/ml, 450.1±286.1 pg / ml for FGF-21; For APRIL, 13.7±3.18 ng/ml was 17.7±10.3 ng/ml.

Fold changes in diabetes with CD group in comparison to only diabetes group were found as: 1.4 for VCAM-1 ($p<0.017$), 1.6 for ICAM-1 ($p<0.004$), 1.4 for FGF-21 ($p<0.009$), for APRIL 1.3 ($p<0.028$). There was no significant difference in terms of P-selectin ($p=0.898$).

Conclusion: Given the incidence of T2DM and CD, identification of these molecules expressed in the atherosclerotic process is important in understanding the pathogenesis of the disease. Significant increase in ICAM-1, VCAM-1, FGF-21, APRIL levels in diabetes and CD patients is thought to enable the development of new strategies for treatment.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 20 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Pulmoner Arteriyel Hipertansiyonlu Hastalarda miRNA Ekspresyonu Paternleri

Melike Bayındır¹, Meral Kayıkçıoğlu², Zekeriya Düzgün³, Büşra Bara¹, Çağdaş Aktan⁴, Zuhale Eroğlu¹, Vildan Bozok Çetintaş¹, Aslı Tetik Vardarlı¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

³Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun

⁴Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Pulmoner arter hipertansiyonu (PAH), sağ ventrikül hipertrofisine ve kalp yetmezliğine yol açan pulmoner vaskülaritenin maladaptasyonu ile karakterizedir. MikroRNA'lar (miRNA), gen ekspresyonunu transkripsiyonel veya post-transkripsiyonel seviyede negatif bir şekilde düzenleyen, yaklaşık 22 nükleotitten oluşan küçük kodlanmayan RNAlardır. miRNA'lar, viral enfeksiyon, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve PAH gibi birçok hastalığın düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada, hafiften şiddetli PAH hastalarında ve sağlıklı kontrol gruplarında, sekiz insan plazma miRNA (hsa-miR-21-3p, hsa-miR-143-3p, hsa-miR-138-5p, hsa-miR-145-3p, hsa-miR-190a, hsa-miR-204-3p, hsa-miR-206, hsa-miR-210-3p) ekspresyon paternini araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: PAH hastalarının (n: 50) ve sağlıklı bireylerin (n: 30) plazmasından miRNA izolasyon kiti kullanılarak miRNA elde edildi. Allin-One First Strand cDNA Sentez Kiti kullanılarak cDNA sentezlendi. qRT-PCR ile insan plazmasındaki hsa-miR-21-3p, hsa-miR-143-3p, hsa-miR-138-5p, hsa-miR-145-3p, hsa-miR-190a, hsa-miR-204-3p, hsa-miR-206, hsa-miR-210-3p ekspresyonu analiz edildi.

Bulgular: Bulgularımıza göre PAH plazma örneklerindeki hsa-miR-21-3p ve hsa-miR-143-3p ekspresyonları sırasıyla 4 ve 2 kat şeklinde azaldı. Hasta ve kontrol gruplarındaki hsa-miR-138-5p, hsa-miR-145-3p, hsa-miR-190a, hsa-miR-204-3p, hsa-miR-206, hsa-miR-210-3p ekspresyon seviyelerinde belirgin bir değişiklik saptanmadı.

Sonuç: Periferik plazmadaki hsa-miR-21-3p ve hsa-miR-143-3p'nin azalan ekspresyon seviyeleri, PAH'ın erken tanısında potansiyel biyobelirteçler olarak nitelendirilebilir.

Expression Pattern of miRNAs in Patients with Pulmonary Arterial Hypertension

Melike Bayındır¹, Meral Kayıkçıoğlu², Zekeriya Düzgün³, Büşra Bara¹, Çağdaş Aktan⁴, Zuhale Eroğlu¹, Vildan Bozok Çetintaş¹, Aslı Tetik Vardarlı¹

¹Department of Medical Biology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

²Department of Cardiology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

³Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Giresun University, Giresun, Turkey.

⁴Department of Medical Biology, School of Medicine, Beykent University, İstanbul, Turkey

Objective: Pulmonary arterial hypertension (PAH) is characterized by maladaptation of pulmonary vascularity which is leading to right ventricular hypertrophy and heart failure. MicroRNAs (miRNA) are the small non-coding RNAs which consist of ~22 nucleotides, regulate the gene expression negatively at the transcriptional or post-transcriptional level. miRNAs play a crucial role in the regulation of many diseases such as viral infection, cancer, cardiovascular diseases and PAH. In this study, we aimed to investigate the expression pattern of eight human plasma (hsa-miR-21-3p, hsa-miR-143-3p, hsa-miR-138-5p, hsa-miR-145-3p, hsa-miR-190a, hsa-miR-204-3p, hsa-miR-206, hsa-miR-210-3p) miRNAs in mild-to-severe PAH patients and healthy controls.

Material-Method: miRNAs were extracted from peripheral plasma of the PAH patients (n:50) and healthy individuals (n:30) by using the miRNA Isolation Kit. cDNA was synthesised using Allin-One First strand cDNA Synthesis Kit. Expression of the human plasma hsa-miR-21-3p, hsa-miR-143-3p, hsa-miR-138-5p, hsa-miR-145-3p, hsa-miR-190a, hsa-miR-204-3p, hsa-miR-206, hsa-miR-210-3p miRNAs were analysed by qRT-PCR.

Results: According to our results, in PAH patients hsa-miR-21-3p and hsa-miR-143-3p expressions levels were decreased 4 and 2 times, respectively. No significant changes were detected in hsa-miR-138-5p, hsa-miR-145-3p, hsa-miR-190a, hsa-miR-204-3p, hsa-miR-206, hsa-miR-210-3p expression levels between patient and control group.

Conclusion: In the early diagnosis of PAH, decreased hsa-miR-21-3p and hsa-miR-143-3p expression levels in peripheral plasma can be considered as potential biomarkers.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 21 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

İnsan pterijyumunda RXR α 'nın ekspresyonunun belirlenmesi

Ömer Ates¹, Emel Ensari¹, Sümeyya Deniz Çelik¹, Selim Demir², Helin Deniz Demir²

¹Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye

²Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye

Amaç: Pterijyum konjonktivadan periferel korneya boyunca üçgen şeklinde yayılan, çok iyi bilinen dejeneratif bir göz hastalığıdır. Hastalığın patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Önceleri dejeneratif bir hastalık olarak bilinen pterijyumun patogenezinin aydınlatılmasında hücre çoğalması ve inflamasyonun da etkili olduğu gösterilmiştir. Retinoik asit normal hücre büyümesi ve farklılaşması için gereklidir. Retinoik X reseptör α , retinoik asit sinyal yolağında görevli olan reseptörlerden biridir. Bu reseptörün fonksiyonun bozulması, pterijyum ile ilişkili olabilmektedir. Bu çalışmada, pterijyumda RXR α geninin ekspresyonu araştırıldı.

Gereç-Yöntem: RXR α mRNA ekspresyon değişimlerini belirlemek için, 30 hastanın aynı gözüne ait pterijyumlu ve kontrol grupları oluşturularak kantitatif real time polimeraz zincir reaksiyonu ve western blot analizleri yapılmıştır. Delta Delta Ct metodu kullanılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS 16.0 software kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Çalışma sonuçlarımıza göre, pterijyumlu ve kontrol grupları karşılaştırıldığında RXR α ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Sonuç: Bu çalışma pterijyumda RXR α 'nın ekspresyon seviyelerinin analiz edildiği ilk çalışmadır. Çalışma bulgularımızın, diğer çalışmalar ile desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Detection of expression of RXR α in human pterygium

Ömer Ates¹, Emel Ensari¹, Sümeyya Deniz Çelik¹, Selim Demir², Helin Deniz Demir²

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

²Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

Objective: Pterygium is a well-known degenerative disease of the ocular surface in which triangular-shaped ingrowth of conjunctival tissue invades the peripheral cornea. The pathogenesis of this disease is unclear. Pterygium was previously thought to be a degenerative disease, new evidence has demonstrated the role of cell proliferation and inflammation in the pathogenesis of pterygium. Retinoic acid is an essential in normal cell growth and differentiation. Retinoic X receptor α is one of the receptors involved in the retinoic acid signaling pathway. Any disorder that affects the functioning of this receptor may be associated with the pterygium.. In this study, we investigated the RXR α gene expression in pterygium.

Materials-Methods: To detect the expression changes of RXR α mRNA, quantitative real-time polymerase chain reaction and Western blotting were used in 30 specimens of pterygium from 30 eyes were examined, together with normal conjunctival tissue from the same eyes and measured by Delta-Delta Ct method. Statistical analyses were performed using the SPSS 16.0 software.

Results: The results of our study indicated that expression of RXR α was not observed a significant difference in the pterygium tissue compared with the normal conjunctiva.

Conclusion: This is the first study to analyzed expression levels of RXR α in pterygium. The study findings need to be supported by other studies.

Bu çalışma TÜBİTAK 1001 projeleri kapsamında 215S692 proje numarası ile desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 23 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Obez ve Sağlıklı Çocuklarda Leptin ve Leptin Reseptör Gen Polimorfizmlerinin Değerlendirilmesi

Ayça Kanat¹, Khayala Rasulova¹, Gönül Çatlı², Tuncay Küme³, Ayhan Abacı⁴, Sefa Kızıldağ⁵

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, İzmir

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı, İzmir

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, İzmir

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı, İzmir

⁵Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Amaç: Obezite, çocuk ve ergenlik döneminde son yıllarda artış gösteren kronik metabolik bir hastalıktır. Yapılan çalışmada obezitede etkili olduğu düşünülen leptin (LEP-G2548A) ve leptin reseptör gen (LEPR-Q223R/K109R/K656N) varyantlarındaki farklılıklar ve bu farklılıkların serum leptin düzeyi ile olan ilişkisinin incelenmesi planlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamıza 12-17 yaş aralığındaki toplam 300 (150 obez, 150 sağlıklı) gönüllü katılmıştır. Bu kişilerin kan örneklerinden Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA kalitesi ve miktarı belirlendikten sonra RealTime-PCR ile çoğaltılmış LEPR geninde polimorfizm bakılmıştır. LEP genindeki varyasyon ise RFLP-PCR yöntemiyle saptanmıştır.

Bulgular: Genotip dağılım hesaplamaları sonucunda LEPR-K109R polimorfizminin kontrol grubunda AA-genotipin hasta grubuna göre düşük, AG-genotipin ise yüksek görüldüğü belirlenmiştir. LEPR-Q223R polimorfizminin kontrol grubunda AA-genotipin hasta grubuna göre yüksek, AG-genotipin ise düşük olduğu görülmüştür. LEPR-K656N ve LEP-G2548A polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımlarında belirgin bir farklılık bulunamamıştır.

Sonuç: Çalışmamızda leptin reseptör ve leptin genlerindeki LEPR-K109R/Q223R/K656N ve LEP-G2548A polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımı obez ve sağlıklı çocuklar arasında karşılaştırılmıştır. LEPR-Q223R polimorfizminin hasta grupta AA genotipinin daha düşük, AG-genotipinin daha yüksek dağılımı ve G-allelinin daha yüksek oranla görülmesi nedeniyle obeziteyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Daha geniş örnekleme yapılacak çalışmalar ile daha kapsamlı ve anlamlı sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.

Evaluation of Leptin and Leptin Receptor Gene Polymorphisms in Children With and Without Obesity

Ayça Kanat¹, Khayala Rasulova¹, Gönül Çatlı², Tuncay Küme³, Ayhan Abacı⁴, Sefa Kızıldağ⁵

¹Dokuz Eylül University Health Sciences Institute, Department of Medical Biology and Genetics, İzmir

²İzmir Katip Çelebi University, Department of Pediatric Endocrinology, İzmir

³Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, İzmir

⁴Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Endocrinology, İzmir

⁵Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İzmir

Objective: Adiposity is a chronic metabolic illness which emerged more frequently in childhood and adolescence within the last years. This study's aim is to explore the differences between leptin (LEP-G2548A), which is considered as being efficacious in respect of adiposity, and leptin receptor gene variants (LEPR-Q223R/K109R/K656N). Furthermore the relationship between these differences and the serum leptin level shall be scrutinized.

Materials-Methods: A total of 300 volunteers (150 adipose, 150 healthy) within the range of 12-17 years of age joined our study. Blood samples obtained from these individuals were used at the labs of the Dokuz Eylül University for DNA isolation. Following the determination of the isolated DNA in regard of quality and amount, an examination was carried out in order to show polymorphisms of the LEPR gene which was increased by RealTime-PCR previously. The variation of the LEP gene were ascertained by implementation of RFLP-PCR method.

Results: Genotype dispersion calculations led to the understanding that the AA-genotype was lower in the LEPR-K109R polymorphism control group than in the treatment group, whereas AG-genotype was higher. The control group of LEPR-Q223R polymorphism had higher AA-genotype values than the treatment group, whereas it showed lower AG-genotype values. No significant differences in regard of genotype dispersion could be found between the treatment and control groups of LEPR-K656N and LEP-G2548A polymorphisms.

Conclusion: The genotype and allele dispersions of LEPR-K109R/Q223R/K656N and LEP-G2548A polymorphisms of LEPR and LEP genes have been used in our study for comparison between adipose and healthy children. The treatment group of LEPR-Q223R polymorphism showed lower AA-genotype values, a higher AG-genotype dispersion and a higher rate of the allele-G. Therefore a relationship to adiposity has been assumed. It is considered that more extensive and significant results can be obtained by performing studies with a wider sampling.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 24 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Konuşma gecikmesi görülen çocuklarda FOXP2 gen polimorfizmlerinin rolü

Mujgan Cengiz¹, Burcu Bayoğlu¹, Nihal Serdengeçti², Meryem Seçen², Zehra Koyuncu², Mine Kucur³, Rahime Hülya Bingöl Çağlayan²

¹*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.D., İstanbul*

²*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D., İstanbul*

³*Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D., İstanbul*

Konuşma gecikmesi (KG), dil gelişim basamaklarında gecikme ve sapmaların olmasıdır. Dil ve konuşma gecikmesi idiyopatik, nörolojik, genetik, duyuşal veya nöropsikiyatrik nedenler sonucu görülebilmektedir. FOXP2, forkhead box (FOX) transkripsiyon faktörü ailesinin (FOXP1-4) bir üyesidir ve DNA'ya bağlanan korunmuş bir transkripsiyon düzenleyicisidir. FOXP2, bazal ganglia ve inferior frontal korteks gibi beyin birçok bölgesinde eksprese olmaktadır ve beyin olgunlaşması, konuşma ve dil gelişimi için gereklidir. Çalışmamızın amacı, KG gözlenmiş çocuklarda FOXP2 gen varyantlarının hastalığın klinik gelişimi ile olan ilişkisini araştırmaktır. Çalışmamız, KG tanısı alan 106 hasta ve 105 sağlıklı kontrol ile yapıldı. Hasta grubunda, işitsel beyinsapı cevabı testi ile WISC-R, Brunet-Lézine, Stanford-Binet ve Denver ölçekleri kullanılarak gelişimsel tarama ve zeka testleri yapıldı. FOXP2 rs12533005 ve rs121908377 gen polimorfizmleri RT-PCR yöntemi ile saptandı. KG grubunda %48.8 otizm spektrum bozukluğu, %33.7 mental retardasyon, %15.1 ekspresif dil bozukluğu (EDB) ve %2.3 işitme kaybı olduğu belirlendi. Hasta ve kontrol grupları, FOXP2 rs12533005 ve rs121908377 genotip ve allel frekansları açısından karşılaştırıldığında, genotip ve allel sıklıkları açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). EDB tanısı alan kız hastalarda KG, erkek hastalara kıyasla daha geç yaşta gözlemlendi ($p=0.04$). Kız ve erkek hastalar rs12533005 genotip frekansları açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.31$). Çeşitli çalışmalarda, FOXP2 genindeki heterozigot genotiplerin konuşma gelişiminde bozukluklara neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, FOXP2'nin orofasiyal kaslarda kontrol kaybı ve akıcı konuşmada bozukluğu kapsayan gelişimsel verbal dispraksi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında FOXP2 rs12533005, rs121908377 genotip sıklıkları açısından anlamlı bir fark bulunmaması, rs12533005 ve rs121908377 varyantlarının KG gelişimi ile ilişkili olmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 41654

The role of FOXP2 gene polymorphisms in children with speech delay

Mujgan Cengiz¹, Burcu Bayoğlu¹, Nihal Serdengeçti², Meryem Seçen², Zehra Koyuncu², Mine Kucur³, Rahime Hülya Bingöl Çağlayan²

¹*Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey*

²*Department of Child and Adolescent Psychiatry, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey*

³*Department of Biochemistry, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey*

Speech delay (SD) is the existence of delays and deviations in language development stages. Language and speech delay can be seen as a result of idiopathic, neurological, genetic, sensory or neuropsychiatric reasons. FOXP2, essential for brain maturation, and language development, belongs to forkhead box (FOX) transcription factor family and is expressed in basal ganglia, and inferior frontal cortex. The aim of this study was to investigate the association of FOXP2 gene variants with clinical development of SD. The study was performed with 106 patients with SD and 105 healthy controls. In patient group, auditory brainstem response test and WISC-R, Brunet-Lézine, Stanford-Binet and Denver scales were used for developmental screening and intelligence tests. FOXP2 rs12533005 and rs121908377 polymorphisms were detected by RT-PCR method. In SD group, 48.8% autism spectrum disorder, 33.7% mental retardation, 15.1% expressive speech disorder (ESD) and 2.3% hearing loss were detected. No significant difference was observed in FOXP2 rs12533005 and rs121908377 genotype and allele frequencies between patient and control groups ($p>0.05$). In female patients with ESD, SD was observed at a later age than in male patients ($p=0.04$). No significant difference was found between female and male patients in terms of rs12533005 genotype frequencies ($p=0.31$). Various studies have shown that heterozygous genotypes in FOXP2 cause speech development disorders. In addition, FOXP2 has been reported to be associated with developmental verbal dyspraxia, including loss of control in orofacial muscles and impaired fluency in speech. In conclusion, we suggest that rs12533005 and rs121908377 variants are not associated with SD development.

This study was supported by Istanbul University-Cerrahpaşa Scientific Research Projects Unit. Project No: 41654



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 26 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Tip 2 diyabette oksidatif DNA hasarı ile hOGG1 Ser326Cys polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması

Gizem Erdoğan¹, Narmina Malikova¹, Çağlayan Akkaya², Yıldız Dincer², Matem Tunçdemir¹, Mehmet Güven, Yalçın Hacıoğlu³

¹Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

³Istanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dahili Bilimler Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Oksidatif stres Tip 2 diyabet (T2DM) gelişiminde önemli bir faktördür, ayrıca diyabette gelişen hiperglisemi de oksidatif stresi arttırmaktadır. T2DM’de oksidatif DNA hasarlarının arttığını, DNA onarımının azaldığını gösteren çeşitli araştırmalar vardır. DNA onarımındaki düzensizlikler DNA onarım genlerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinden (SNP) kaynaklanabilmektedir. Oksidatif DNA hasarının onarımından sorumlu hOGG1 genindeki Ser326Cys polimorfizmi, azalmış hOGG1 aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur. Çalışmamızın amacı, T2DM’de DNA hasar parametresi olarak 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyi ile hOGG1 Ser326Cys polimorfizm arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamız 132 T2DM hastasında ve 116 kontrolde gerçekleştirilmiştir. hOGG1 Ser326Cys genotipleme, polimeraz zincir reaksiyonu-restriksion fragment uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi kullanılarak, 8-OHdG düzeyleri enzim bağlı immünosorbent yöntemi (ELISA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: T2DM hasta grubundaki 8-OHdG düzeyi (14.10 ± 1.07 ng/ml) kontrol grubuna göre (7.48 ± 0.75 ng/ml) anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Bununla beraber, hasta ve kontrol grupları açısından 8-OHdG düzeylerine hOGG1 Ser326Cys polimorfizminin herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edildi. Ayrıca hasta ve kontrol grupları arasında OGG1 genotip dağılımları ve allel sıklıkları açısından bir fark tespit edilmedi.

Sonuç: Çalışmamızda T2DM hastalarında DNA hasar belirteci olarak artmış 8-OHdG düzeyi tespit edilmesine rağmen, hasar düzeylerine bu hasarların tamirinde rol oynayan hOGG1 enzimidaki Ser326Cys SNP’sinin etkisi tespit edilmemiştir. Bu durum, oksidatif DNA hasar tamirinin çoklu mekanizmalar ile gerçekleştiğini göstermektedir

Research of the relationship between oxidative DNA damage and hOGG1 Ser326Cys polymorphism in type 2 diabetes

Gizem Erdoğan¹, Narmina Malikova¹, Çağlayan Akkaya², Yıldız Dincer², Matem Tunçdemir¹, Mehmet Güven, Yalçın Hacıoğlu³

¹Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Medical Biology Department, İstanbul

²Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Medical Biochemistry Department, İstanbul

³Istanbul Education Research Hospital

Objective: Oxidative stress is an important factor in the development of type 2 diabetes (T2DM), and hyperglycemia in diabetes also increases oxidative stress. There are several studies showing that oxidative DNA damage increases and DNA repair decreases in T2DM. Irregularities in DNA repair may result from single nucleotide polymorphisms (SNPs) in DNA repair genes. Ser326Cys polymorphism in the hOGG1 gene responsible for repair of oxidative DNA damage was associated with decreased hOGG1 activity. The aim of this study was to investigate the relationship between 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and hOGG1 Ser326Cys polymorphism as a DNA damage parameter in T2DM.

Materials-Methods: Our study was performed in 132 T2DM patients and 116 controls. hOGG1 Ser326Cys genotyping was performed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method, and 8-OHdG levels were performed using enzyme-linked immunosorbent method (ELISA).

Results: The 8-OHdG level (14.10 ± 1.07 ng / ml) in the T2DM patient group was significantly higher than the control group (7.48 ± 0.75 ng / ml) ($p < 0.001$). However, it was determined that hOGG1 Ser326Cys polymorphism had no effect on 8-OHdG levels in terms of patient and control groups. In addition, no difference was found between the patient and control groups in terms of OGG1 genotype distributions and allele frequencies.

Conclusion: In our study, although 8-OHdG level was detected as a DNA damage marker in T2DM patients, the effect of Ser326Cys SNP on hOGG1 enzyme, which plays a role in the repair of these damage, was not detected. This suggests that oxidative DNA damage repair is performed by multiple mechanisms.

Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-BAP, Proje No:26171



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 27 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Alkol Bağımlılığında SNARE proteinleri (VAMP2, Synaptotagmin XI, Syntaxin 1A ve SNAP-25) varyantlarının ve serum düzeylerinin analizi

Ömer Şenormancı¹, Çetin Turan¹, Güliz Şenormancı¹, Sevim Karakaş Çelik², Ayca Çelik⁴, Tuba Gökdoğan Edgünlü³, Ceren Bilgi⁶, Ayşe Semra Akça⁵

¹Bursa Yüksek İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD.

²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.

³Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

⁴Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

⁵Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD.

⁶Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Amaç: Alkol bağımlılığı %60'a varan genetik komponenti olan biyopsikososyal bir psikiyatrik bozukluktur. Alkol bağımlılığında genetik faktörlerin katkısı için genin yapısında ve ifadesinde kalıtsal farklılıklar ve etanol maruziyeti sonucu ortaya çıkan gen ifadesindeki değişiklikler şeklinde iki temel yaklaşım vardır. Alkol çok çeşitli sinaptik etkilere bulunmasına rağmen presinaptik terminalde hangi proteinlerin ve işlemlerin etkilendiği, bu düzenlemelerin nasıl olduğu net değildir. Bu çalışmada, alkol bağımlıları ile sağlıklı kontrol grubu arasında SNARE proteinlerinden olduğu bilinen iki sinaptik vezikül proteini (VAMP2 ve Synaptotagmin XI) ve iki presinaptik plazma membran proteini (Syntaxin 1A ve SNAP-25) gen varyantları ve serum seviyelerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamıza Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi AMATEM (Madde Bağımlılığı Tedavi Merkezi)'de 107 hasta ve 104 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol bireylerden alınan kan örneklerinden kit yardımıyla DNA izole edilerek SNARE proteinlerinin gen varyantları PCR-RFLP yöntemi ile analiz edilmiştir. Ayrıca ELISA yöntemi ile serum SNARE proteinlerinin düzeyleri tespit edilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda serum düzeyleri değerlendirilen VAMP2, Synaptotagmin XI, Syntaxin 1A ve SNAP-25 (SNARE) proteinlerin kontrol grubunda alkol bağımlılığı olan kişilere oranla daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Alkol bağımlıları ve kontrol bireyler SNARE gen varyantları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Ancak Synaptotagmin XI rs3820594 polimorfizmi için hasta grubunda C alel frekansında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda alkol bağımlılığı olan bireylerde SNARE proteinlerinin serum düzeylerinin kontrole oranla azaldığı ilk kez öne sürülmüştür. Bu veri ışığında

alkolün kan düzeyinde vezikül trafiğinde önemli bir rol oynayan SNARE proteinleri üzerinde etkili olabileceği belirtilmiş olup sonraki çalışmalarda alkolün beyindeki SNARE proteinlerine etkisinin araştırılmasını düşündürmüştür. Alkolün etki mekanizmasının aydınlatılması, alkol bağımlılığı gelişiminin önlenmesi ve tedavisi ile ilgili yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde faydalı olacaktır.

Analysis of variants and serum levels of SNARE proteins (VAMP2, Synaptotagmin XI, Syntaxin 1A and SNAP-25) in alcohol dependence

Ömer Şenormancı¹, Çetin Turan¹, Güliz Şenormancı¹, Sevim Karakaş Çelik², Ayca Çelik⁴, Tuba Gökdoğan Edgünlü³, Ceren Bilgi⁶, Ayşe Semra Akça⁵

¹Bursa High Specialized Training and Research Hospital Department of Psychiatry

²Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Department of Medical Genetic

³Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

⁴Bülent Ecevit University Faculty of Science Department of Molecular Biology and Genetic

⁵Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Department of Psychiatry

⁶Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Science Department of Molecular Biology and Genetic

Objective: Alcohol dependence is a biopsychosocial psychiatric disorder with genetic background. For the contribution of genetic factors in alcohol dependence, there are two main approaches; inherited differences in gene structure and expression and changes in gene expression due to ethanol exposure. Although alcohol has a wide variety of synaptic effects, it is not clear which proteins and processes are affected at the presynaptic terminal and how these arrangements are effected. The aim of this study was to compare serum levels of two synaptic vesicle proteins (VAMP2 and Synaptotagmin XI) and two presynaptic plasma membrane proteins (Syntaxin 1A and SNAP-25), which are known to be SNARE proteins, between alcohol dependents and healthy controls.

Materials-Methods: Our study was included 107 patients and 104 healthy controls at Health Sciences University (SBÜ) Bursa High Specialization Training and Research Hospital AMATEM (Substance Addiction Treatment Center). DNA were extracted with DNA extraction kit from peripheral blood samples. We analyzed genetic variants of the SNARE proteins with PCR-RFLP method. In addition, serum SNARE protein levels were determined by ELISA method.

Results: In our study, serum levels of VAMP2, Synaptotagmin XI, Syntaxin 1A and SNAP-25 (SNARE) proteins were found to be higher in the control group compared to alcohol dependence group. Result of genetic



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 27 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

variants of SNARE genes analyzed in case-control group, we have not found any significant differences. However, there was a significant increase in C allele frequency in the patient group compared to the control group for Synaptotagmin XI rs3820594.

Conclusion: In the light of this data, it has been stated that alcohol may have an effect on SNARE proteins which play an important role in vesicle traffic. Clarifying the mechanism of action of alcohol will be useful in developing new treatment strategies for the prevention and treatment of alcohol dependence.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 28 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Büyük veriden hücre karakterizasyonuna: Transkripsiyon faktörü kataloglarının oluşturulması

Gözde İmren¹, Beren Karaosmanoğlu², Betül Çelebi Saltık³, Güneş Esendağlı⁴, Ekim Zihni Taşkiran¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı; Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Cerrahi Araştırmalar Ana Bilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Bilimleri; Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara

⁴Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı; Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Cerrahi Araştırmalar Ana Bilim Dalı, Ankara

Transkripsiyon faktörleri (TF), spesifik DNA dizilerini tanıyarak kromatin ve transkripsiyon kontrolü ile gen ifadesini düzenleyen moleküllerdir. Tek başına veya başka proteinler ile kompleks oluşturan ve RNA polimeraz bağımlı gen transkripsiyonunu aktive ederek veya engelleyerek birçok hücresel süreçte kritik role sahiptir. Tek bir TF farklı hücre tiplerinde farklı genlerin ifadesini regüle edebilir. Bu regülasyon kapasitesi büyük oranda TF'lerin spesifik DNA dizilerine bağlanabilme yetenekleri ile ilişkilidir. C2H2-zinc finger (ZF), homeodomain, basic helix-loop-helix (bHLH), basic leucine zipper (bZIP) ve nükleer hormone reseptör (NHR)'ler ökaryotlarda bulunan ana TF aileleridir. TF'lerinin tanımlanmasında transkriptomik teknolojilerin gelişmesi, tek hücre seviyesi de dahil, büyük veri eldesi konusunda çığır açmıştır. Hücre ve doku spesifik gen ifade profillerinin belirlenmesi mümkün hale gelmiştir. Bu çalışmada grubumuz, farklı insan primer hücrelerinde, RNA-dizileme tabanlı büyük verinin analizi ile hücre spesifik transkripsiyon faktörü haritasını çıkarmayı hedeflemektedir. Çalışmaya dahil edilen örnekler; stromal hücreler ve kan hücreleri olmak üzere iki ana grupta toplanabildiği gibi, multipotent kök hücrelerden (perisit, mezenkimal kök hücre, hematopoetik kök hücre vb.) terminal diferansiye (nötrofil, monosit vb.) hücrelere kadar geniş bir hücre tipi yelpazesi içermektedir. Çalışmamız genel olarak, şimdiye kadar tanımlanan yaklaşık 1639 farklı transkripsiyon faktörünün ifade düzeylerine odaklanmış olup, tek bir platform üzerinden elde edilmiş yeni nesil dizileme verilerine dayanmaktadır. Yapılan veri analizleri yaklaşık 20.000 genin ifade düzeyinin transkripsiyon faktörleri ifade düzeyleri ile korele olduğunu göstermiştir. Daha önemlisi; transkripsiyon faktör alt grupları (ortalama 90 gen) kullanılarak hedef hücredeki 20.000 genin ifade örüntüsünün tahminlenebileceği ortaya konulmuştur. Son olarak, hücre spesifik transkripsiyon faktörlerinin ifadelerine odaklanıldığında, hücresel kimliklemenin yapılabildiği ve henüz literatürde tanımlanmamış olan hücre spesifik ifade örüntülerinin saptandığı görülmüştür.

From big data to cell characterization: Establishing a catalogue for transcription factors

Gözde İmren¹, Beren Karaosmanoğlu², Betül Çelebi Saltık³, Güneş Esendağlı⁴, Ekim Zihni Taşkiran¹

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics; Institute of Health Sciences Department of Basic Surgical Research, Ankara

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Ankara

³Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Department of Stem Cell Sciences; Center for Stem Cell Research and Development, Ankara

⁴Hacettepe University Cancer Institute, Department of Basic Oncology; Institute of Health Sciences Department of Basic Surgical Research, Ankara

Transcription factors (TFs), recognize specific DNA sequences and regulate gene expression by chromatin and transcription control. They play a critical role in many cellular processes by activating or inhibiting RNA polymerase dependent gene transcription, either alone or part of a protein complex. A transcription factor can regulate the expression of different genes in different cell types. This regulation capacity is mostly related to the ability of TFs to bind specific DNA sequences. The main TF families in eukaryotes are: C2H2-zincfinger (ZF), homeodomain, basic helix-loop-helix (bHLH), basic leucine zipper (bZIP) and nuclear hormone receptor (NHR). The development of transcriptomic technologies bring revolution in obtaining big data including the single cell level, for transcription factor identification so that determination of cell and tissue specific gene expression profiles has become possible.

In this study, our group aims to enlight the cell-specific transcription factor by analysis of RNA-seq based big data from different human primary cells. Although samples included in this study can be grouped in 2 major category as stromal cells and blood cells, they consist of a wide variety of cell types starting from multipotent stem cells (pericyte, mesenchymal stem cells, hematopoietic stem cells, etc.) to terminally differentiated cells (neutrophils, monocytes, etc.). Our study focuses on expression levels of approximately 1639 different transcription factors identified so far and is based on next generation sequencing data from a single platform. Data analysis showed that the expression level of approximately 20,000 genes correlates with the expression levels of transcription factors. More importantly, it has been demonstrated that the expression pattern of 20,000 genes in the target cell can be represented by using transcription factor subgroups (avg. 90 genes). Finally, when focusing on the expression of cell-specific transcription factors, it was found that cellular identification could be obtained and novel cell-specific expression patterns were identified.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 29 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Akromegali hastalarında HMGA2, MiR23b ve MiR-107 gen varyantları ile medikal tedaviye yanıt arasındaki ilişki

Ayşe Seda Akdemir¹, Derya Metin Armağan¹, Hande Mefkure Özkaya², Özge Polat Korkmaz², Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Nurperi Gazioğlu³, Pınar Kadioğlu⁶, Necmettin Tanrıöver⁴, Ahmet Dirican⁵, Melek Öztürk¹

¹Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

²Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları B.D, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

³Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Demiroğlu Bilim Üniversitesi

⁴Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

⁵Biyoistatistik Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

⁶Hipofiz Araştırma Merkezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Giriş: Akromegali, hipofiz adenomlarının neden olduğu aşırı büyüme hormonu(GH) salgılanmasının sonucu olarak ortaya çıkan nadir bir hastalıktır. HMGA2 ve AIP genlerinin aşırı ekspresyonu, hipofiz adenomları için belirteçtir, ayrıca somatostatin analog(SSA) tedavisine yanıtlarda ilişkilidir. Bu genlerin ekspresyonunu kontrol eden miRNA'lar hipofiz adenomlarının gelişiminde etkili olabilir. Bu çalışmada, akromegali hastalarında HMGA2 genindeki rs1351394, HMGA2 gen ekspresyonunu kontrol eden miR23b-rs201749160 ve AIP gen ekspresyonunu düzenleyen miR107-rs11185776 TNP'lerinin Türk popülasyonundaki genotip dağılımlarını, hastalık riski ve SSA tedavisine yanıtı arasındaki olası ilişkileri araştırmayı amaçladık.

Materyal-Metod: Akromegali hastalarının(141) ve sağlıklı bireylerin(99) kan örneklerinden elde edilen DNA'lerden qRT-PCR yöntemiyle genotipler belirlendi. Hasta ve sağlıklı grupların genotip dağılımları, ayrıca hastaların klinik verileri ile genotipler arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: HMGA2-rs1351394'e ait genotip dağılımı; hastalarda CC:%43.3;CT:%41.8;TT:%14.9, sağlıklı kontrollerde CC:%41.4;CT:%40.4;TT:%18.2 idi. CT+TT genotipine sahip akromegali hastalarında PreopGH ve IGF-1 düzeyleri anlamlılık sınırına yakın yüksek idi. SSA tedavisine kötü-yanıt verenlerde CT+TT genotipine sahip olanlarda Preop-GH ve p53 düzeyleride anlamlılık sınırına yakın olarak daha yüksek, tedaviye iyi-yanıt verenlerde ise Ki67 indeksi daha yüksekti(p=0,019). Hastalığın klinik verileri ile karşılaştırıldığında T-alleleline sahip hastalarda p53 düzeyleri daha yüksek bulundu. SSA tedavisine kötü-yanıt verenlerde T-alleleline sahip hastalarda Preop-GH(p=0,097) düzeyleri anlamlılık sınırına yakın değerlerde daha yüksekti, SSA tedavisine iyi yanıt veren hastalarda ise T-alleleline sahip hastalarda Ki67 ekspresyon düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu.

Sonuç: HMGA2-rs1351394 polimorfizmi ile akromegali

hastalığı arasında doğrudan bir ilişki bulunmamakla birlikte, akromegali adenom oluşumuyla ilişkili bazı klinik özellikler ile genotipler arasında bağlantı olduğu gösterildi. Akromegali hastalarında tedaviye yanıt ve T-alleli arasında özellikle IGF-1, p53 ve Ki67 düzeylerinin yüksekliği ile bir ilişkinin saptanması, bu allelin hastalık için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Relationship between HMGA2, Mir23b and Mir-107 gene variants and response to medical treatment in acromegaly patients

Ayşe Seda Akdemir¹, Derya Metin Armağan¹, Hande Mefkure Özkaya², Özge Polat Korkmaz², Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Nurperi Gazioğlu³, Pınar Kadioğlu⁶, Necmettin Tanrıöver⁴, Ahmet Dirican⁵, Melek Öztürk¹

¹Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Medicine Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa,

²Department of Endocrinology and Metabolism, Cerrahpaşa Medicine Faculty Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

³Department of Neurosurgery, Medicine Faculty, Demiroğlu Bilim University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Neurosurgery, Cerrahpaşa Medicine Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

⁵Department of Biostatistics, Cerrahpaşa Medicine Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

⁶Pituitary Research Center, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

Acromegaly disease occurs as a result of excessive growth hormone(GH) secretion caused by pituitary adenomas(PA). HMGA2 and AIP overexpression are markers for PAs, also associated with response to somatostatin analogue(SSA) therapy. Some miRNAs that control the expression of these genes can be related with PA. We aimed to investigate genotype distributions of rs1351394 in HMGA2 gene, rs201749160 in miR23b gene related to HMGA2, and also rs11185776 in miR-107 related to AIP gene in Turkish population, as well as the possible relationship between these SNPs and SSA treatment response in patients with acromegaly. Genotypes were determined by qRT-PCR method from DNA obtained from blood samples of acromegaly patients(141) and healthy individuals(99). The genotype distributions of patients and healthy groups, as well as the relationship between the clinical data of the disease and genotypes were statistically compared.

Genotype distribution of HMGA2-rs1351394 were CC:43.3%;CT:41.8%;TT:14.9% in patients, C:41.4%;CT:40.4%;TT:18.2% in controls. Preop-GH and IGF-1 levels were close to the significance limit in acromegaly patients with CT+TT genotype. Preop-GH and p53 levels were higher (near the limit of significance) in patients with CT+TT genotype who responded poorly to SSA-treatment, and Ki67 index(p=0.019) was higher in patients who responded good to SSA-treatment. p53



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 29 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

levels were significantly higher in acromegaly patients with T-allele. Preop-GH($p=0.097$) levels were higher in patients with T-allele that responded poorly to SSA treatment whereas in the good-responded to SSA, Ki67 levels were significantly higher in patients with T-allele. We did not observed the miRNAs polymorphisms in Turkish population.

Although there is no relationship between HMGA2-rs1351394 polymorphism and acromegaly disease, some clinical features related to PA, especially IGF-1, p53 and Ki67 levels, have been shown to be related to polymorphic genotypes. The association between treatment response and T-allele in patients with acromegaly, suggested that this allele may be a risk factor for the disease.



PS – 30 POSTER BİLDİRİ / HASTALIKLARIN MOLEKÜLER ve GENETİK TEMELİ

Preeklemside STOX1 Geni Promotor Variasyonlarının Araştırılması

Seyda Akın, Ergün Pınarbaşı, Aslıhan Esra Bildirici

*Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD,
Sivas, Türkiye*

Amaç: Yaygın bir gebelik hastalığı olan Preeklampsia hamileliklerin %4-10'unu etkiler ve anne ve fetus üzerinde zararlı etkilere sahiptir. Preeklemsideki genetik yatkınlığın %50 civarında olduğu belirlenmiştir Çok sayıda linkaj analiz çalışması preeklampsia ile ilişkili kromozomal alanların varlığını ortaya koymaktadır. Bu çalışmalar sonucunda keşfedilen ve literatürde tartışma kaynağı olan genlerden birisi, bir transkripsiyon faktörü olan STOX1 genidir. Bugüne kadar yapılan çalışmaların pek çoğu STOX1 geni ikinci ekzonunda bulunan Y153H varyasyonunun preeklampsia ile ilişkisi üzerinedir. Bu çalışmalar STOX1'in hastalıkla ilişkisini açıklamak için yetersiz olmaktadır. Preeklampsia ve STOX1 arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için farklı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmada, ilk defa Türk popülasyonunda STOX1 geni promotor bölge değişikliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: 50 preeklampsia hastası ve 50 sağlıklı gebe bireyden alınan kan örnekleri DNA dizileme yöntemi ile incelenmiştir.

Bulgular: Verilerin analizi sonucunda -922 T>C varyasyonu erken başlangıçlı preeklampsia olan bireylerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.013).

Sonuç: STOX1 genindeki bu varyasyon erken başlangıçlı preeklampsiaye yatkınlık oluşturmaktadır. Bununla birlikte, STOX1'in preeklampsia patolojisindeki rolünün anlaşılabilmesi için bu varyasyonun araştırıldığı fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Investigation of Promotor Varvations of STOX1 Gene in Preeclampsia

Seyda Akın, Ergün Pınarbaşı, Aslıhan Esra Bildirici

*Cumhuriyet University, Faculty of Medicine, Department of
Medical Biology Sivas, Turkey*

Objective: Preeclampsia is a common pregnancy disease which affects 4-10% of pregnancies and has harmful effects on mother and fetus. Genetic susceptibility in preeclampsia is reported to be around 50%. Numerous linkage analysis studies have demonstrated the presence of chromosomal areas associated with Preeclampsia. One of the genes discovered as a result of these studies is the STOX1 gene which is a transcription factor. Recently, most of the studies have been on the relationship of the Y153H variation in the second exon of the STOX1 gene to the preeclampsia. These studies are insufficient to explain the relationship between STOX1 and disease. Different studies are needed to understand the relationship between preeclampsia and STOX1. The aim of this study was to investigate the variations in the promoter region of the STOX1 gene in the Turkish population for the first time.

Materials-Methods: Blood samples taken from 50 preeclampsia patients and 50 healthy pregnant individuals were examined by DNA sequencing method

Results: As a result of the data analysis, -922 T> C variation was found to be statistically significant in individuals with early onset preeclampsia compared to control group (p=0.013).

Conclusion: The variation in the STOX1 gene are susceptible to early-onset Preeclampsia. However, in order to understand the role of STOX1 in the pathology of preeclampsia, functional studies investigating the variation are needed



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ

GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 052 POSTER BİLDİRİ / GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ

LentiVIP Gen Nakli Tip 1 Diyabetik Deneklerde Sistemik Enflamasyonu Baskılayarak Kan Şekerini Düşürdü

Fulya Erendor¹, Elif Özgecan Şahin¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Amaç: Tip 1 diyabet (T1DM) pankreatik beta hücrelerinin spesifik T hücre aracılı dejenerasyonu ile karakterize insülin yetmezliği ile sonuçlanan bir hastalıktır. Vazoaktif İntestinal Peptit (VIP), hem insülinotropik hem de anti-inflamatuar etki gösteren güçlü bir antidiyabetik ajandır. Ancak peptidazlara karşı (Dipeptidil Peptidaz 4-DPP-4) aşırı hassasiyet sergileyen VIP'den herhangi bir terapötik etki gözlemleyebilmek için peptidin sürekli veya birçok kez hastaya enjeksiyonu gerekmektedir. Bunu önlemek için stabil VIP geni eksprese eden lentiviral vektörler (LentiVIP) ürettik. Üretilen vektörlerin T1DM üzerindeki terapötik etkinliğini araştırdık.

Gereç-Yöntem: Stabil gen ekspresyonu sağlamak amacıyla güvenilirliği ve etkinliği klinik denemelerde kanıtlanmış 3. jenerasyon HIV tabanlı lentiviral vektörlere VIP kodlayan gen klonlandı. Projemizde kullanılmak üzere çoklu-düşük doz STZ indüklü T1DM deney hayvan modeli geliştirildi. Üretilen LentiVIP gen nakil vektörünün etkinliği T1DM deney hayvan modelinde test edildi.

Bulgular: LentiVIP gen nakli yapılan diyabetik deneklerde; kan şekerinin düştüğü, pankreas beta hücre fonksiyonunun arttığı ve deneklerin kilo aldığı tespit edildi. Ayrıca diyabet kaynaklı artan serum CRP seviyesinde düşüş, serum oksidan kapasitesinde normalizasyon ve antioksidan kapasitesinde iyileşme belirlendi.

Sonuç: Elde edilen bulgular LentiVIP gen naklinin ileride T1DM hastalarının tedavisinde yeni bir terapötik yaklaşım olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. TUBITAK-215S820

LentiVIP delivery reduces blood glucose level by suppressing systemic inflammation in Type 1 Diabetes

Fulya Erendor¹, Elif Özgecan Şahin¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University, Antalya, Turkey

²Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, 07058, Turkey

Objective: Type 1 diabetes (T1DM) is characterized by autoimmune destruction of pancreatic beta cells leading to insulin deficiency. Because vasoactive intestinal peptide (VIP) displayed insulintropic and anti-inflammatory properties, it has been regarded as a novel therapeutic agent for the treatment of diabetes. Despite all these beneficial properties, VIP is extremely sensitive to peptidases (DPP-4) requiring constant infusions or multiple injections to observe any therapeutic effect. Thus, an HIV-based lentiviral vector encoding human VIP (LentiVIP) was constructed to test the therapeutic efficacy of VIP in multiple-low dose STZ induced animal model of T1DM.

Materials-Methods: 3rd generation of HIV-based lentiviral vectors carrying vasoactive intestinal peptide encoding gene (LentiVIP) were generated to provide a stable VIP gene expression in vivo. In addition, a multiple-low dose STZ-induced T1DM experimental animal model was developed to test the therapeutic efficacy of LentiVIP.

Results: LentiVIP delivery into animal model of T1DM resulted in reduced hyperglycemia, improved glucose tolerance, and prevented weight loss. Decrease in serum CRP, and serum oxidant levels, in addition to improved antioxidant capacity were also observed in treated animals.

Conclusion: All these beneficial results suggested that LentiVIP delivery should be evaluated as a novel therapeutic approach for the treatment of patients with T1DM. TUBITAK – 215S820



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 053 POSTER BİLDİRİ / GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ

Retinitis Pigmentoza Gen Tedavi Çalışmalarında Kullanılmak Üzere Lentiviral Vektörlerin Geliştirilmesi ve Testi

Elif Özgecan Şahin¹, Fulya Erendor¹, Ahmet Burak Bilgin², Serdar Ceylaner³, Salih Şanlıoğlu¹

¹Akdeniz Üniversitesi Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya

³İntergen Genetik Hastalıklar Tanı, Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara

Retinitis Pigmentoza (RP) fotoreseptörlerin yapı ve fonksiyonunu bozan genetik mutasyonların sebebiyet verdiği retinal dejeneratif bir hastalıktır. Hastalığa sebebiyet veren genlerin çoğu rod hücrelerinde olsa da, rod hücrelerinin kaybı zaman içerisinde koni hücrelerinin dejenerasyonuna sebebiyet verir. Rod hücre ölüm mekanizması ve dejenerasyon hızı mutasyona uğrayan gene bağlı olup, rod hücrelerinin büyük bir çoğunluğu ölmeye koni hücre kaybı başlamaz. Rod hücre ölümleri oksijen tüketimini azalttığından, dış retinal tabakada oksijen seviyesi yükselir. Aşırı oksijen, mitokondriyal elektron transfer sistemi ve NADPH oksidaz aracılığıyla, sitoplazmada oksijen radikallerinin oluşumuna sebebiyet verir. İlerleyen oksidatif stres, koni hücre fonksiyon bozukluğu ve dejenerasyonuna neden olur. Fotoreseptör dejenerasyonu, mikroglial hücreleri aktive ederek, onların retinal plexiform tabakasından subretinal bölgeye göçmelerini sağlar. Aktif mikrogliallar da proinflatuvar sitokinler salgılayarak, fotoreseptör dejenerasyonunu hızlandırır. Bu nedenlerden dolayı hastalığa neden olan mutasyon, gen replasman tedavisiyle düzeltilse bile, fotoreseptör dejenerasyonu yine de durdurulamaz. Fotoreseptör dejenerasyonunu önleyebilmek için, oksidatif stresi nötralize eden ve mikroglia aktivasyonu baskılayan yeni sinir koruyucu gen tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Bu bağlamda; antiinflatuvar özellikleriyle tanınan Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP) isimli sinirsel iletili ile geliştirilecek gen nakil çalışmaları umut vaat edebilir. Retinal hücrelere gen nakil çalışmalarında viral vektörler sentetik vektörlere kıyasla en iyi gen taşıyıcıları olmasına rağmen Adeno-ilişkili virus (AAV) ve Adenoviral vektörler ile ancak sınırlı bir başarı yakalanmıştır. Yüksek transdüksiyon etkinliği, uzun süreli ve stabil gen ekspresyonu aynı zamanda da düşük toksisite özellikleri ile tanınan 3. nesil lentiviral vektörleri bu amaçla test etmek istedik. İlk adım olarak da retinal pigment epitel hücrelerini (ARPE-19) kırmızı floresan protein kodlayan lentiviruslar (LentiRFP) ile transdükte ettik. Sonuçlarımıza göre lentiviral vektörlerin retinal hücrelere etkin bir şekilde gen transferi yaptığı belirlenmiştir. TUBİTAK-218S543

Testing of Lentiviral Vectors for The Effective Treatment of Retinitis Pigmentosa

Elif Özgecan Şahin¹, Fulya Erendor¹, Ahmet Burak Bilgin², Serdar Ceylaner³, Salih Şanlıoğlu¹

¹Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University, Antalya

²Department of Ophthalmology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya

³Intergen Center for Genetic Diseases, Ankara

Retinitis pigmentosa is a retinal degenerative disease, which results from genetic mutations disrupting photoreceptor function and structure. As rod cell death mechanism and degeneration process are caused by the type of mutation, cone cells don't even start to die until the majority of the rod cells are lost. Reduced oxygen consumption due to the absence of rod cells cause an increase in oxygen levels of the outer retinal layer. Excessive oxygen, activates NADPH oxidase leading to the generation of superoxide radicals in cytoplasm through mitochondrial electron transport chain. Progressive oxidative stress eventually causes photoreceptor dysfunction and loss. Dead photoreceptors activate microglial cells and cause them to migrate from retinal plexiform layer to subretinal space. Moreover, secretion of proinflammatory cytokines by microglial cells exacerbates photoreceptor degeneration. Consequently, correcting genetic defect by gene replacement therapy does not effectively cure or prevent photoreceptor degeneration as revealed by recent clinical trials. Thus, inhibition of oxidative stress and microglial activation might be necessary to stop the degenerative process. To give such an example, anti-inflammatory Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) gene delivery can be tested. Despite viral vectors are the best for effective gene delivery into retinal cells, only limited success was achieved using Adeno-associated Virus (AAV) and Adenoviral vectors. Thus, we also wanted to test 3rd generation lentiviral vectors for the same purpose since they are known to provide high levels of transduction, long term-stable gene expression without any known toxicity. To check if lentiviral vectors are suitable for gene delivery into retinal pigment epithelial cells, ARPE-19 cells were infected with lentivirus encoding red fluorescent protein (LentiRFP). Our initial results suggested that lentiviral vectors can effectively be used to deliver therapeutic genes into retinal cells. TUBİTAK-218S543



PS – 054 POSTER BİLDİRİ / GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ

**Yüksek yağlı diyetle beslenen obez farelerde
Lentiviral vektör aracılı TRAIL transferi
serum alkali fosfataz, toplam kolesterol ve
glukoz seviyelerini düşürdü**

Gizem Seker¹, Özlem Yılmaz¹, Ahter Dilşad Şanlioğlu¹,
Hasan Ali Altunbaş²

¹Akdeniz Üniversitesi Gen ve Hücre Tedavisi Uygulama ve
Araştırma Merkezi

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim
Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı

TNF-İlişkili Apoptoz-İndükleyici Ligand (TRAIL), özellikle obezite ve diyabetteki olası koruyucu rolü dolayısıyla, TNF-alfa ve FasL gibi diğer TNF süper ailesi üyelerinden farklılık gösterir. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde çözünür TRAIL (sTRAIL) uygulamasının metabolik anormalliklerde düzelme sağladığı gösterilmiştir. Çalışmamızda, Lentiviral vektör aracılı TRAIL transferi gerçekleştirilen obez C57BL6 fare modellerinde, karaciğer ve böbrek belirteç seviyelerindeki farklılıkları araştırdık. Tüm hayvanlar 8 haftalık olana kadar normal yemle (% 5-10 yağ içeren) ad libitum beslendikten sonra, yüksek yağlı diyet (HFD, 60% yağ) gruplarının en az 8 hafta boyunca HFD diyetle beslenmesi sağlandı ve haftalık ağırlık ve açlık kan şekeri düzeyleri ölçüldü. TRAIL-kodlayan Lentiviral vektörler (Lenti-TRAIL) intraperitonel olarak uygulandı ve terapötik etkisi takip edildi. Deney ve kontrol gruplarından kan alınarak serumları ayrıldı. Albumin, glukoz, gamma-glutamyl transpeptidaz, alkalın fosfataz, total bilirubin, alanin aminotransferaz (karaciğer paneli); total protein, kreatinin, inorganik fosfor, kan üre azotu, kalsiyum seviyeleri (böbrek paneli); ve total kolesterol seviyelerindeki değişimler, biyokimya otoanalizör cihazında analiz edildi. Lenti-TRAIL vektörü uygulanan gruplarda, serum alkalın fosfataz, total kolesterol ve glukoz seviyelerinde düşüş gözlemlendi. Bu bulgular, Lentiviral vektör-aracılı TRAIL uygulamasını obezitede metabolik abnormalitelerin hafifletilmesinde kullanılabilecek bir yaklaşım olarak güçlendirmektedir (TUBITAK Proje No: 112S450).

**Serum alkaline phosphatase, total cholesterol,
and glucose levels were lowered in high-fat
diet-fed obese mice following Lentiviral
vector-mediated TRAIL transfer**

Gizem Seker¹, Özlem Yılmaz¹, Ahter Dilşad Şanlioğlu¹,
Hasan Ali Altunbaş²

¹Akdeniz University Center for Gene and Cell Therapy

²Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Internal
Diseases, Division of Endocrinology and Metabolism

TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) differs from other members of the TNF superfamily, particularly due to its putative protective role in obesity and diabetes. Alleviation of metabolic abnormalities were shown in soluble TRAIL (sTRAIL)-treated high-fat diet-fed mice. We investigated alterations in various liver and kidney marker levels in obese C57BL6 mouse models treated with TRAIL-encoding Lentiviral vectors (Lenti-TRAIL). Following 8 weeks of ad libitum chow (containing 5-10% fat) feeding, mice in the high-fat diet group (HFD, 60% fat) were fed with HFD for 8 weeks, with weight and non-fasting blood glucose level measurements done weekly. TRAIL-encoding Lentiviral vectors were applied intraperitoneally for follow-up of therapeutic effects. Blood was collected from experimental and control groups and sera were separated for investigation of alterations in albumin, glucose, gamma-glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase, total bilirubin, alanine aminotransferase (liver panel); total protein, creatinine, inorganic phosphorus, blood urea nitrogen, calcium levels (kidney panel); and total cholesterol levels, by a biochemistry autoanalyzer. Lenti-TRAIL vector-treated groups displayed lowered levels of serum alkaline phosphatase, total cholesterol, and glucose. These findings strengthen Lentiviral vector-mediated TRAIL application as a potential candidate for alleviation of metabolic abnormalities in obesity (TUBITAK Grant No: 112S450).

Araştırmamız TUBITAK (Proje No: 112S450) tarafından desteklenmiştir.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 055 POSTER BİLDİRİ / GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ

mikroRNA-216b, *KRAS* 3'UTR Bölgesini Hedefleyerek Meme Kanseri Hücrelerinin Büyümesini İnhibe Eder

Havva Tezcan¹, Gülşah Çeçener¹, Pınar Taşar², Ünal Egel¹, Berrin Tunca¹, Mustafa Şehsuvar Gökgöz²

¹Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Meme kanseri, dünyada en sık görülen ikinci kanser tipi olmakla birlikte, kadınlarda en sık görülen malignitedir. mikroRNA-216b (miR-216b)'nin birçok kanserin gelişiminde etkili olduğu bilinmesine rağmen, miR-216b'nin meme kanserindeki rolü bilinmemektedir. Mevcut çalışmada, miR-216b'nin, potansiyel hedefi olan *KRAS* 3'UTR (3' Untranslated Region) bölgesi ile etkileşiminin meme kanseri hücre büyümesini nasıl etkilediği araştırılmıştır. Öncelikle, MCF7 hücre hattında miR-216b ile *KRAS* 3'UTR bölgesi arasındaki bağlanma özellikleri, yönlendirmeli mutagenез (site-directed mutagenesis) yöntemi kullanılarak incelendi. Sonraki aşamada, miR-216b, *KRAS* 3'UTR ve mutant *KRAS* 3'UTR bölgelerini içeren vektörler tekli ve ikili gruplar halinde MCF7 hücrelerine transfekte edildi. Transfeksiyon işleminden 48 saat sonra lusiferaz aktiviteleri ve hücre canlılığı analiz edildi. Hücrelerin *KRAS* ekspresyonu ise, RT-PCR ve western blot yöntemleri kullanılarak mRNA ve protein düzeyinde değerlendirildi. Gerçekleştirilen lusiferaz reporter analizi sonucu miR-216b'nin, *KRAS* 3'UTR bölgesine bağlandığı belirlendi ($p=0,0059$). Bununla birlikte, MCF7 hücrelerinde miR-216b transfeksiyonunun *KRAS* geninin ekspresyonunu önemli ölçüde down-regüle ettiği belirlendi (4.14 kat, $p<0.001$). Western blot sonuçları gen ekspresyonu verilerini destekler nitelikteydi. Ayrıca, bu hücrelerde hücre canlılığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düştüğü belirlendi (%79,9; $p=0,0457$). Bulgularımız, miR-216b'nin meme kanserinde *KRAS* genini hedefleyerek tümör baskılayıcı rol oynadığına dair ilk ipuçlarını sunmaktadır. miR-216b'nin meme tümörögenезindeki fonksiyonunun tam olarak anlaşılabilmesi için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmakla birlikte, mevcut çalışmamız miR-216b'nin meme kanseri tedavisinde yeni bir terapötik hedef olabileceğini göstermektedir.

microRNA-216b, as a tumor suppressor, inhibits breast cancer cell growth by targeting *KRAS* 3'UTR

Havva Tezcan¹, Gülşah Çeçener¹, Pınar Taşar², Ünal Egel¹, Berrin Tunca¹, Mustafa Şehsuvar Gökgöz²

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bursa Uludağ University, Bursa, Turkey

²Department of General Surgery, Faculty of Medicine, Bursa Uludağ University, Bursa, Turkey

Breast cancer is the second most common cancer worldwide and the most commonly occurring malignancy in women. microRNA-216b (miR-216b) plays an important role in many cancers. However, little is known about the function of miR-216b in breast cancer. In this study, we explored how miR-216b affects breast cancer cell growth by targeting *KRAS*, a potential target of miR-216b. In this study, site-directed mutagenesis method was used to demonstrate the interaction between miR-216b and 3'UTR site of *KRAS* in MCF7 cell lines. As separate and binary groups, miR-216b, *KRAS* 3'UTR and mutant *KRAS* 3'UTR were transfected into MCF7 cells. Then, luciferase activities and cell viability were measured at 48 h after transfection. The expression levels of *KRAS* were examined by RT-PCR and western blotting in transfected cells. Based on luciferase assay results for the reporter gene expressing miR-216b/*KRAS* 3'UTR binding sites, *KRAS* 3'UTR was confirmed as a direct target of miR-216b ($p=0,0059$). Additionally, *KRAS* was detected to be significantly downregulated (4.14-fold, $p<0,001$) in miR-216b transfected MCF7 cells. Western blot results were also compatible with the gene expression data. Moreover, in these cells, cell viability was significantly decreased to 79.9% compared to control group ($p=0,0457$). Taken together, our findings provide, for the first time, significant clues regarding the role of miR-216b as a tumor suppressor by targeting *KRAS* in breast cancer. Although future studies are required to completely clarify the function of miR-216b in breast tumorigenesis, we think that miR-216b may be a new therapeutic target in breast cancer treatment.

Mevcut çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, KUAP(T)-2015/4 nolu proje kapsamında desteklenmektedir. This study was supported by a grant from the Scientific Research Projects Foundation of the Uludağ University, Bursa, Turkey [Project No: KUAP(T)-2015/4].



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ KÖK HÜCRE



PS – 035 POSTER BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Nörodejeneratif hastalıkların seyrinde oral kavite kaynaklı kök hücrelerin etkileri: sistematik bir derleme

Emel Uzunoğlu Özyürek¹, Gizem Önal², Serap Dökmeci²

¹Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Oral kavite kaynaklı kök hücrelerin (OKKKH), Parkinson (PH), Alzheimer (AH) Huntington (HH) ve amiyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıkların (NH) seyri/tedavisi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla in vitro ve in vivo çalışmalardan yayınlanmış veriler sistematik olarak gözden geçirilmiş ve eleştirel bir şekilde analiz edilmiştir.

Pubmed, Scopus ve Web of Science veri tabanları kullanılarak kapsamlı bir elektronik arama yapılmıştır. Çalışmalar dahil etme/hariç tutma kriterlerine göre uygunluk açısından eleştirel bir şekilde değerlendirilmiştir. Çalışmaların yanlışlık riskinin değerlendirilmesi ve kanıt sentezi yapılmıştır.

Toplam 18 çalışma (8 in vivo ve 10 in vitro) dahil edilme kriterlerini karşılamıştır. PH, 7 in vivo ve 7 in vitro çalışmada modellenirken, AD 1 in vivo ve 4 in vitro çalışmada modellenmiştir. ALS modelinde sadece 1 in vitro çalışmada oral kavite kaynaklı kök hücrelerin etkileri değerlendirilmiştir. Oral kavite kaynaklı kök hücrelerin, PH'nın veya AH'nın seyrinde olumlu etkilerinin olduğunu bildiren in vitro çalışmaların kanıt düzeyi orta derecede bulunmuştur. İn vivo çalışmalara bakıldığında, oral kavite kaynaklı kök hücrelerin PH hayvan modellerinde hastalığın tedavisinde etkileri değerlendirildiğinde olumlu yönde güçlü kanıtlar bulunurken; AH hayvan modellerinde bu değerlendirmede sınırlı kanıtlar bulunmuştur.

Oral kavite kaynaklı kök hücrelerin kullanılmasının, NH modellendiği nöral hücrelerin canlılığını arttırdığı in vitro olarak gösterilmiştir. İn vivo çalışmalar sonucunda, oral kavite kaynaklı kök hücrelerin, PH veya AH hayvan modellerinin motor ve bilişsel işlevlerini geliştirdiği bildirilmiştir. Klinik uygulamalar öncesinde NH'ler için düşük önyargı riski olan ve tekrarlanabilir veri içeren in vitro/in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Effects of oral cavity derived stem cells on the progress of neurodegenerative diseases: a systematic review

Emel Uzunoğlu Özyürek¹, Gizem Önal², Serap Dökmeci²

¹Hacettepe University Faculty of Dentistry, Department of Endodontics, Ankara

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara

Published data from in vitro and in vivo studies was reviewed systematically and analyzed critically in order to evaluate the effect of oral cavity derived stem cells on the recovery/therapy of neurodegenerative diseases (NDs) such as Parkinson's (PD), Alzheimer's (AD), Huntington's (HD), and amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

A comprehensive electronic search was performed using Pubmed, Scopus, and Web of Science databases. Studies were critically evaluated for the eligibility against inclusion/exclusion criteria. Evaluation of the risk of bias of the studies and evidence synthesis were performed.

A total of 18 studies (8 in vivo and 10 in vitro) were met inclusion criteria. PD was induced in 7 in vivo and 7 in vitro studies, while AD was induced in 1 in vivo and 4 in vitro studies. Only 1 in vitro study evaluated ALS. Moderate evidence was found for in vitro studies reporting positive effect of oral cavity derived stem cells on either PD or AD recovery. Strong evidence was found for in vivo studies which were used PD animal models; while limited evidence was found for effect of oral cavity-derived stem cells on the recovery of the AD in vivo.

The use of oral cavity derived stem cells increased viability of neural cell models of NDs in vitro. In vivo studies reported that oral cavity derived stem cells improved the motor and cognitive function of PD or AD animal models. Further in vitro/in vivo studies with low bias risk and reproducible data will be needed for NDs before clinical implications.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 036 POSTER BİLDİRİ / KÖK HÜCRE

Transgenik Fare Modelinde Dalak ve Omurilik Kökenli Hematopoietik Kök Hücrelerin Uzun Dönem Yeniden Yapılandırılması ve Hematopoiezin Sağlanması

Deniz Altunsu¹, Seyma Çalış², Melih Acar¹, Timuçin Avşar¹

¹Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Kemik iliğinde bulunan hematopoietik kök hücreler (HKK) tüm kan hücrelerinin üretilmesini sağlamaktadır. Kemik iliği, HKK'lerin en yoğun olarak yerleştiği kaynaktır. Son yıllarda kök hücre popülasyonları, farklılaşma potansiyelleri ve HKK'lerin nişleri ile ilgili ayrıntılı araştırmalar yapılmaktadır. Kemik iliğine alternatif olarak, göbek kordonu kanı, dalak, omurga ve fetal karaciğer, kök hücre kaynağı olarak gösterilebilir. Fakat göbek kordonu kanı, dalak, omurga ve fetal karaciğerde bulunan HKK ve progenitor hücre sayısı kemik iliğine göre daha azdır. Bu nedenle çalışmamızın amacı, dalak ve omurgadan elde edilen HKK'ler ile kök hücre transplantasyon yapılması ve HKK'lerin yerleşimi, hematopoiezin sağlanması ve farelerin sağ kalımının analiz edilmesidir.

Bu amaç doğrultusunda, HKK'lerin transplantasyon sonrası takip edilebilmesi için yeni keşfedilmiş HKK belirteci α -catulin yerine GFP knock-in yöntemi ile yerleştirilmiş transgenik fareler kullanılmıştır. Lineer parçacık hızlandırıcı ile optimize edilmiş lethal doza göre ışınlanarak, farelerin HKK'leri yok edilmiş ve sonrasında kemik iliği, dalak ve omurga hücreleri ile transplantasyon gerçekleştirilmiştir. CD48-/CD150+ ve C-KIT+/Sca1+ hücre popülasyonlarının frekansı değerlendirilmiş ve kemik iliği transplantasyonu gerçekleştirilmiş olan fareler ile karşılaştırma yapılmıştır. Aynı zamanda farelerin sağ kalım süreleri izlenmiştir.

Çalışmanın sonuçları dalak ve omurgadan elde edilmiş HKK'lerin kemik iliği transplantasyonu kadar etkili olduğunu göstermiştir. Dalak ve omurgada bulunan GFP+ HKK sayısı kemik iliğine göre daha az olsa da, dalak ve omurgadan izole edilmiş hücreler hematopoiezi sağlamayı başarmışlardır. Dahası, CD48-/CD150+ ve C-KIT+/Sca1+ hücre popülasyonlarının uzun süreli (>16 hafta) yer edindiği gözlemlenmiş ve farelerin de bu süreyle ilişkili olarak sağ kalım süreleri artış göstermiştir. Sonuç olarak, dalakta ve omurilikteki kan kök hücrelerinin hematopoiezi yeniden sağlayabilecek miktarda ve verimlilikte olduğu, ayrıca bu kan kök hücrelerinden farelerin yaşaması için gerekli olan tüm kan hücrelerinin üretilebildiği gösterilmiştir.

Long Term Hematopoietic Reconstitution by Spleen and Spinal Cord Stem Cells Transplantation in Transgenic Mouse Model

Deniz Altunsu¹, Seyma Çalış², Melih Acar¹, Timuçin Avşar¹

¹Bahçeşehir University, School of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey

²Istanbul Technical University, Institute of Science and Technology, Molecular Biology and Genetics Graduate Program, Istanbul, Turkey

Hematopoietic stem cells (HSCs) can give rise to all blood cell types which reside in the bone marrow. Bone marrow is the potential source of HSCs. It has recently been extensively evaluated with regards to its various stem cell populations, differentiation potentials and HSCs niches. As an alternative, umbilical cord blood (CB), spleen, spine and fetal liver are crucial and readily available stem cell resources. However, the number of resident hematopoietic stem cells and progenitor cells in CB, spleen, spine and fetal liver are very rare and low in number compared with bone marrow.

Aim of this study is to perform HSC transplantation with spleen and spine HSCs to compare HSC habitation, reconstitution of hematopoiesis and survival of mice. To this aim, -a novel HSC marker α -catulin- transgenic mice (1) were used as transplantation model which also bears a GFP knock-in to track hematopoietic stem cells after transplantation. Mice were irradiated eradicate HSCs with the optimized lethal dose by using linear accelerator and were transplanted with WBM, spleen and spinal cord cells. Frequency of CD48-/CD150+ and C-KIT+/Sca1+ cells populations were evaluated and compared with the WBM transplanted mice.

Results indicated that, transplantation with spleen and spine HSCs is effective as much as WBM transplantation. Although the number of GFP+ HSC is lower in spleen and spine compared to WBM, cells isolated from spleen and spine were able to reconstitute hematopoiesis. Furthermore, long term (>16 weeks) reconstitution of CD48-/CD150+ and C-KIT+/Sca1+ cells populations were maintained and mice survived accordingly. As a conclusion, for the first time spleen and spinal cord HSCs maintained long term reconstitution of blood cell subtypes and further those HSCs were showed to be capable of generating all blood cell subtypes.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ

HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ



PS – 060 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

Erkek Üreme Sistemi Ve Otofaji

Mesut Can¹, Nazlı Karagöz Can²

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD. Aydın.

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD. Muğla.

Programlı hücre ölüm mekanizmalarını iyi anlamak, bu mekanizmalardaki herhangi bir bozukluk sonucu oluşabilecek hastalıklara karşı geliştirilecek ilaçlar ve tedavi yaklaşımlarını belirlemede oldukça önemlidir. Son dönemlere ilgi çekici bir programlı ölüm mekanizması olan otofaji bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve bu mekanizmanın aydınlatılması gerekliliği vurgulanmıştır. Erkek üreme sistemi birçok moleküler mekanizmayı barındıran komplike bir sistemdir ve son dönemde, spermatogenik kök hücreler, spermatogonium, spermatosit ve spermatozoa dahil olmak üzere, spermatogenik hücreler üzerindeki otofajinin etkilerini ve altta yatan mekanizmalarını fizyolojik ve patofizyolojik koşullar altında göstermeyi hedefleyen çalışmalarda literatüre eklenmektedir. Bizde bu çalışma ile erkek üreme sistemi ve otofaji mekanizması arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Male Reproductive System And Autophagy

Mesut Can¹, Nazlı Karagöz Can²

¹Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry. Intellectual.

²Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology. Muğla.

To understand perfectly of programmed cell death mechanisms is quite important in determining the drugs and treatment approaches to be developed against diseases that may occur as a result of any disorder in these mechanisms. Recently, autophagy which is an interesting programmed death mechanism, has attracted the attention of scientists and was emphasized the need to clarify this mechanism. The male reproductive system is a complex system which keeps many molecular mechanisms and recently, it has been added to the literature that aims to demonstrate the effects and the underlying mechanisms of autophagy on spermatogenic cells, including spermatogenic stem cells, spermatogonium, spermatocytes and spermatozoa under physiological and pathophysiological conditions. In this study, we aimed to research the relationship between male reproductive system and autophagy mechanism.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 033 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

Diyabetik testis değişikliklerinde p16 ve GRP78 proteinlerinin rolü

Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Alp Aytekin², Nevin Erensoy³, Selma Yılmaz⁴

¹*Istanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

²*Münih Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Almanya*

³*Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye*

⁴*Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Diabetes mellitus (DM) çeşitli organlarda ciddi komplikasyonlara neden olur. Diyabetik erkek hastalarda cinsel bozuklukların bulunduğu bilinmektedir. Diyabette fertilitate problemlerinin nedenleri tam olarak açıklanmamıştır. Bu çalışmada diyabetik testiste dejeneratif değişiklikler ile apoptoz, proliferasyon, yaşlanma ve endoplazmik retikulum stresi ile ilişkili proteinlerin ilişkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Çalışmada 7 adet Wistar tipi albino sıçana (65 mg/kg) STZ intraperitoneal olarak verildi. 7 adet sıçan da kontrol grubu olarak ayrıldı. Tüm deney gruplarının kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlıkları belli aralıklarla ölçüldü. STZ enjeksiyonundan 30. gün sonra deney hayvanları sakrifiye edildi ve testisleri çıkarılarak ışık ve elektron mikroskopik inceleme için hazırlandı. Doku kesitleri hematoxilen+eosin ve PAS+HI ile boyanarak morfolojik değişiklikler değerlendirildi. Kaspaz 3, Kaspaz 8, endoplazmik retikulum şaperonu GRP78, yaşlanmayla ilgili tümör baskılayıcı protein p16 ve PCNA proteini ifadeleri immünohistokimyasal yöntem ile araştırıldı. Ayrıca TUNEL yöntemi ile apoptotik hücreler değerlendirildi. Yarı ince kesitler %1'lik toluidin mavisi ile boyanarak incelendi.

Bulgular: STZ diyabetik sıçanların testislerinde seminifer tubüllerde spermatogenez duraklaması, immatür germ hücrelerinin tubul lümenine dökülmesi, germinal epitel düzeninin bozulması, tubul bazal membranlarında kalınlaşma gibi çeşitli dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Diyabet, TUNEL pozitif apoptotik hücrelerin sayısında artışa, PCNA pozitif hücrelerin sayısında ise azalmaya neden oldu. Kaspaz 3 ve Kaspaz 8 ifadesinde bir değişiklik görülmezken p16 ve GRP78 ifadelerinde artış görüldü.

Sonuç: Sonuçlarımız, seminifer tubüllerde hızlanmış yaşlanma süreci ve Endoplazmik retikulum stresi ile ilişkili mekanizmaların diyabet ile indüklenen testis bozukluklarında rol oynayabileceğini desteklemektedir.

The role of p16 and GRP78 proteins in diabetic testicular alterations

Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Alp Aytekin², Nevin Erensoy³, Selma Yılmaz⁴

¹*Istanbul University, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Istanbul, Turkey*

²*Technical University of Munich, Faculty of Medicine, Germany*

³*Balıkesir University Medical Faculty, Medical Biology Department, Balıkesir-Turkey*

⁴*Altınbaş University Medical Faculty, Medical Biology Department, Istanbul-Turkey*

Objective: Diabetes mellitus (DM) causes severe complications and deleterious effects on various organs in the body. Sexual disturbances in diabetic patients are well known. The cause of fertility problems in diabetes is largely unknown. The aim of this study was to investigate the effects of streptozotocin (STZ) induced diabetes on testicular spermatogenic disturbances and expression of apoptosis, proliferation, aging and ER stress related proteins.

Materials-Methods: Seven male Wistar albino rats received intraperitoneal injection of STZ (65 mg/kg) and seven normal rats received vehicle and served as control. During the experimental period, blood glucose levels and body weights were measured. 30 days later, all the animals were sacrificed and their testes were removed and prepared for light and electron microscopic examinations. The tissue sections were stained with hematoxylin and eosin, periodic acid Schiff reaction for evaluation of testicular histopathological changes. Caspase 3, Caspase 8, ER chaperone GRP78, senescence and ageing protein p16 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expressions were evaluated using immunohistochemical staining. TUNEL assays were performed to evaluate apoptosis.

Results: Various morphological changes were observed in the testes of STZ induced diabetic rats including; disorganisation of germinal cells, spermatogenesis arrest in different stages, desquamation of immature germ cells and thickening of basement membranes of the seminiferous tubules. Diabetes induced increase in testicular TUNEL positive cells, and decrease in PCNA positive cells but did not change the expression of caspase-3 and caspase-8. Diabetic rat seminiferous tubules showed increased expression of p16 and GRP78.

Conclusion: These results suggest that accelerated senescence of seminiferous epithelial cells and ER stress related mechanisms may contribute to diabetes induced testicular disturbances.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 056 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

Timokinon ve sitozin arabinozid'in akut miyeloid lösemi hücre hattında apoptozis ve hücre çoğalmasına etkileri

Aslı Altun¹, Nurten Kara¹, Şengül Tural¹, Alişan Yıdırın², Leman Tomak³

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

²Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerjik İmmünoloji Bilim Dalı,

³Biyoistatistik Anabilim Dalı, Samsun.

Amaç: Akut miyeloid lösemi (AML) tedavisi güç olan hematolojik bir kanserdir. Kullanılan kemoterapik ilaçlara direnç gelişmesi tedaviyi engellemektedir. AML'de kullanılan sitozin arabinozid (Ara-C) apoptotik etkili bir ilaçtır. Timokinon (TQ) ise antioksidan, antienflamatuvar ve antikanserojen etkili, doğal bir ürün olan çörek otunun ekstraktıdır. Bu çalışmada amaç AML hücre hatlarında kemoterapik ajan olan Ara-C ve doğal bir antikanserojen olan TQ'nun birlikte ve ayrı ayrı kullanılarak apoptoz, viabilite ve hücre çoğalmasına etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada Kasumi- 6 AML hazır hücre hatları kullanıldı. Özgün besi ortamına alınan hücrelere 48 ve 72 saatlik süreler için üç ayrı konsantrasyonda sitozinarabinozid ve timokinon uygulandı. Annexin-V ve PI boyama sonrası flowsitometride her bir grup için apoptoz, hücre çoğalması ve canlılığı değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmada 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde incelenen her iki grupta da etken maddelerin tek başlarına ve birlikte kullanımları sonucunda kontrole göre apoptozda artış ve viabilitede azalma gözlenmiştir ($p < 0,001$). Inkübasyon süreleri karşılaştırıldığında ise üç grupta da en düşük canlı hücre sayısının 48. saatte olduğu gözlenmiştir ($p < 0,001$).

Sonuç: Çalışmamızda TQ ve Ara-C'nin uygulanan her grupta apoptozun artması ve viabilitenin azalması hücre çoğalmasının baskılandığını göstermiştir. TQ ve Ara-C'nin birlikte kullanımının ise apoptoza sinerjistik bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

The effects of thymoquinone and cytozine arabinoside on apoptosis and cell proliferation in acute myeloid leukemia cell line

Aslı Altun¹, Nurten Kara¹, Şengül Tural¹, Alişan Yıdırın², Leman Tomak³

¹Ondokuz Mayıs University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology,

²Department of Pediatrics, Section of Allergic Immunology,

³Department of Biostatistics, Samsun.

Objective: Acute myeloid leukemia (AML) is a hematologic cancer that is difficult to treat. Resistance to used chemotherapeutic drugs prevents the treatment. The Cytosine Arabinoside (Ara-C) is used in AML is an apoptotic drug. Timokinon (TQ) is an extract of natural black cumin has antioxidant, anti-inflammatory and anticancer effect. The aim of this study is to investigate the effects of a chemotherapeutic agent Ara-C, and a natural anticancer agent of TQ, on apoptosis and cell proliferation of AML cell lines both alone and in combined form.

Materials-Methods: In this study, Kasumi-6 AML cell line was used. The Ara-C and TQ were applied to the cell set three different concentrations for 48 and 72 hours. After annexin V and PI staining, apoptosis, viability and cell proliferation were evaluated for each group by flowcytometry.

Results: In the study, AML cell lines showed a statistically significant on single use of the active substances and their combined use showed increase in apoptosis and decrease in viability in both groups at 48 and 72 hour incubation times ($p < 0,001$). The lowest number of viable cells in the three groups in the incubation times was observed at 48 hours ($p < 0,001$).

Conclusion: In this study, in each group of AML cell line TQ and Ara-C were applied, it was observed that apoptosis was increased and viability decreased and consequently cell proliferation was suppressed. The combination of TQ and Ara-C had no synergistic effect on apoptosis.

Bu çalışma Yüksek Lisans tez çalışmasıdır.



PS – 057 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

**Pelvik Organ Prolapsusu Olmayan
Postmenopozal Ve Menopozal Kadınlarda
Apoptozla İlişkili Genlerin Değişimi**

Bahadır Saatlı¹, Ayça Kanat³, Fatima Dedemoğlu Kocaman³, Erkan Çağlıyan¹, Sefa Kızıldağ²

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

³Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Pelvik organ prolapsusu (POP); pelvik organların vajene doğru sarkması veya vajinadan dışarı çıkmasıyla sonuçlanan bir rahatsızlıktır. Pelvik organlara destek sağlayan kas ve sinirlerin hasar görmesi sonucunda oluşmaktadır. Apoptoz; non-inflamatuar hücre ölüm mekanizmasıdır. Mitokondriyal hücre ölüm yolağı, Bcl-2 protein ailesini (Bcl-2, Bcl-xl, Bax, Bad) içeren ve apoptozdan sorumlu en önemli yolaklardandır. Bu yolda Bcl-2 ve Bcl-xl proteinleri anti-apoptotik, Bax ve Bad proteinleri pro-apoptotiktir.

Projemizde pelvik organ prolapsusu olmayan, menopoz öncesi ve menopoz dönemindeki olgularda anti-apoptotik ve pro-apoptotik genlerin ekspresyon seviyelerinin saptanması hedeflenmiştir

Gereç-Yöntem: Çalışma çok merkezli, bir olgu-kontrol çalışmasıdır. Çalışma gruplarını, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinin, Kadın Hastalıkları ve Doğum poliklinik/servislerine başvuran menopoz öncesi (n=9) ve menopoz döneminde (n=5) POP semptomları görülmeyen kadınlar oluşturmaktadır. Olgulardan üç farklı tipte doku örneği (Parametrium- Round Ligament- Sacrouterine Ligament) alınmış ve bu dokulardan RNA izolasyonu yapılmıştır. Saflığı ve miktarı belirlenen RNA örnekleri cDNA'ya çevirdikten sonra Real Time PCR yapılarak anti-apoptotik ve pro-apoptotik genlerin ekspresyon seviyeleri saptanmıştır.

Bulgular: BCL-2 gen ekspresyon seviyesi menopoz öncesi olguların tüm dokularında, menopoz dönemindeki olguların tüm dokularına kıyasla anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Sacrouterine Ligament dokusunda menopoz öncesi olgularda menopoz dönemi olgulara oranla BAD ekspresyon seviyesi ve BCLXL/BAX oranı anlamlı düşük, BAX ekspresyon seviyesi ve BCL2/BAD oranı anlamlı yüksek çıkmıştır. BCL2/BAX oranı Parametrium ve Round Ligament dokularında menopoz öncesi olgularda, menopoz dönemindeki olgulara kıyasla anlamlı derecede yüksek çıkmıştır.

Sonuç: Bu projede, POP hastalığı görülmeyen menopoz döneminde ve menopoz öncesindeki olgularda anti-apoptotik ve pro-apoptotik genlerin ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar incelenmiştir. Sonuçlar apoptozla ilişkili protein düzeylerinin menopoz dönemindeki olgularda, özellikle Sacrouterine Ligament dokularda değiştiğini göstermektedir. Çoklu doğum yapmak, fibroz doku ve bağ dokudaki kişisel faktörlerin

yanı sıra proapoptotik genlerin ekspresyon seviyelerinin menopoz sonrası olgularda artması pelvik organ prolapsusuna zemin hazırladığını göstermektedir.

**Alteration Of Apoptosis-Related Genes In
Postmenopausal And Menopausal Women
Without Pelvic Organ Prolapse**

Bahadır Saatlı¹, Ayça Kanat³, Fatima Dedemoğlu Kocaman³, Erkan Çağlıyan¹, Sefa Kızıldağ²

¹Dokuz Eylul University Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, İzmir

²Dokuz Eylul University Faculty Of Medicine Department Of Medical Biology, İzmir

³Dokuz Eylul University Health Sciences Institute Department Of Medical Biology And Genetics, İzmir

Objective: Pelvic organ prolapse (POP) is the downward descent of pelvic organs result in protrusion of the vagina, uterus or both. Apoptosis; is a non-inflammatory cell death mechanism. The mitochondrial cell death pathway is one of the most important pathways responsible for apoptosis, including the Bcl-2 protein family (Bcl-2, Bcl-xl, Bax, Bad). In this pathway, Bcl-2 and Bcl-xl proteins are anti-apoptotic, Bax and Bad proteins are pro-apoptotic. It is known that there is an increase in cell death as the expression level of pro-apoptotic genes increases. The aim of this study was to determine the expression levels of anti-apoptotic and pro-apoptotic genes in premenopausal and menopausal patients without pelvic organ prolapse.

Materials-Methods: This is a multicenter case-control study. The study groups consisted premenopausal (n=9) and menopausal (n=5) women who did not have POP symptoms who applied to Obstetrics and Gynecology outpatient clinic/services of Dokuz Eylül University Faculty of Medicine. Three different types of tissue samples (Parametrium-Round Ligament- Sacrouterine Ligament) were taken from the cases and RNA is isolated from these tissues. After purifying and quantifying, RNA samples were converted to cDNA. Real Time PCR was used to determine the expression levels of anti-apoptotic and pro-apoptotic genes.

Results: BCL-2 gene expression levels were significantly higher in all tissues of premenopausal patients compared to all tissues of menopausal patients. Sacrouterine Ligament tissue BAD expression level and BCLXL/BAX ratio were significantly lower, BAX expression level and BCL2/BAD ratio were significantly higher in premenopausal patients compared to menopausal patients. The BCL2/BAX ratio was significantly higher in the premenopausal patients in the Parametrium and Round Ligament tissues compared to the menopausal patients.

Conclusion: In this project, differences in the expression levels of anti-apoptotic (BCL-2, BCL-XL) and pro-apoptotic (BAX, BAD) genes in menopause and premenopausal patients without POP disease is



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 057 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

investigated. The results show that apoptosis-related protein levels changed in menopausal patients, especially Sacrouterine Ligament tissues. The increase of proapoptotic genes in postmenopausal cases indicates that it is the basis for POP. Also, having multiple births, personal factors in fibrosis tissue and connective tissue are also effective.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 058 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

HeLa hücre soyunda Apigenin ve Curcumin'in apoptoz ve otofaji üzerine sinerjistik etkisi

Sera Kayacan¹, Kaan Yılcıoğlu², Seda Akdemir¹, Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Melek Öztürk¹

¹*Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*Üsküdar Üniversitesi, Biyomühendislik Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Serviks kanseri kadınlarda sık görülmektedir. Apoptoz ve otofajiyle ilişkili hücre ölümü kanser gelişimini önlemede önemli rol oynar. Kanser tedavisinde doğal bileşikler etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Apigenin ve curcumin, anti-tümöral etkileri olan doğal ürünlerdir. Amacımız curcumin ve apigeninin kombine kullanımının, HeLa hücrelerinde apoptoz ve otofajik hücre ölümüne bağlı genlerin ekspresyonları, aynı zamanda her iki hücre ölümü arasındaki karşılıklı etkileşimleri üzerine sinerjik etkilerini incelemektir.

Gereç-Yöntem: HeLa hücreleri MEM medyumunda büyütüldü. Hücre canlılıklarını belirlemek için MTT analizi kullanıldı. Curcumin-apigenin ilaç kombinasyonunun sinerjisini analiz etmek için Bliss bağımsızlık modeli kullanıldı. Apoptoz ve/veya otofajik hücre ölümü ile ilişkili genlerin (BclxL, Bid, Bad, Fas, FADD, TRADD, TNF, TNFR1, TRAF2, PUMA, NOXA, Caspase-3, -8, -9, Bif1, BNIP3, Atg5, Atg12, Beclin1 ve DAPk) ifadeleri qRT-PCR yöntemi ile tespit edildi.

Bulgular: Kombine tedavinin, % 89,26 oranında hücre canlılığını baskıladığı tespit edildi. Kombine kullanılan curcumin ve apigenin, sırasıyla 0,09-0,06 µg/µl'lık dozlarıyla, anti-tümör etkiye sahip sinerjik bir etki gösterdikleri saptandı. Apoptoz ve/veya otofajik hücre ölümü ile ilgili gen ekspresyonları 1,29-27,6 kat arasında artış gösterdi. Beclin1, Atg12, Atg5, BNIP3 ve Bif1'in yüksek ekspresyonları apoptotik ve otofajiye bağlı hücre ölümünün aynı anda tetiklediği tespit edildi.

Sonuç: Sonuçlarımız, curcumin ve apigeninin kombine kullanımının, HeLA hücre soyunda doza bağlı olarak sitotoksik etkiye sahip olduğunu, sinerjik etkileri ile apoptoz ve otofaji-ilişkili hücre ölümünün ortak adımlarını tetikleyerek hücrelerin çoğalmasını belirgin bir şekilde engellediğini ve serviks kanseri tedavisinde terapötik potansiyele sahip olabileceğini göstermiştir.

Synergistic effect of Apigenin and Curcumin on cross-talk between apoptotic and autophagic cell death in HeLa cells

Sera Kayacan¹, Kaan Yılcıoğlu², Seda Akdemir¹, Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Melek Öztürk¹

¹*Istanbul University Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Medical Biology, İstanbul, Turkey*

²*Uskudar University, Bioengineering Faculty, Department of Molecular Biology and Genetics, İstanbul*

Objective: Cervical cancer is common in women. Apoptosis and autophagy-related cell death play an important role in preventing cancer development. Natural compounds can be used effectively in cancer treatment. Apigenin and curcumin are anti-tumoral natural products. Our aim was to investigate synergistic effects of curcumin and apigenin on HeLa cells, either alone or combined, on apoptosis and autophagy-related genes expression, and also the cross-talk between both cell deaths.

Materials-Methods: HeLa cells were grown using MEM. MTT assay was used to determine the cell viabilities. The Bliss independence model was used to analyze synergy of curcumin-apigenin combination. qRT-PCR was used to measure the expression levels of the genes related to apoptosis and/or autophagic cell death (BclxL, Bid, Bad, Fas, FADD, TRADD, TNF, TNFR1, TRAF2, PUMA, NOXA, Caspase-3, -8, -9, Bif1, BNIP3, Atg5, Atg12, Beclin1 and DAPk).

Results: Combined treatment inhibited cell viability with a rate of 89.26%. The combined use of curcumin and apigenin with doses of 0.09-0.06 µg/µl (respectively) showed a synergistic effect which resulted in anti-tumor effect. The expressions of genes related to apoptosis and/or autophagic cell death increased between 1.29-27.6 folds. It was shown that Beclin1, Atg12, Atg5, BNIP3 and Bif1 provide cross-talk between apoptosis and autophagy-related cell death.

Conclusion: Our data demonstrated that co-treatment with curcumin and apigenin significantly inhibited growth in HeLa cells. Their synergistic effect induces apoptosis-autophagy-related cell death cross-talk. Combined use of curcumin and apigenin may have therapeutic potential in cervical cancer treatment.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 059 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

Metformin, yüksek glikoz koşullarının yaşlı insan deri fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkilerini baskılar

Tuğba Soydaş¹, Müge Sayitoğlu², Elif Yaprak³, Suzan Çınar⁴, Seyhun Solakoğlu³, Tunç Tiryaki⁵, Gönül Kanigür¹

¹Istanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul; ²Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Istanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Istanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁵Istanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁶Cellest Estetik Cerrahi Kliniği, Altzeren sk. No: 5, Levent, İstanbul

Amaç: Metformin, anti-aging bir ajan olarak başarıyla kullanılmıştır, ancak yaşlanmayı geciktirmedeki kesin moleküler mekanizmaları bilinmemektedir. Cildin yaşlanması sırasında ortaya çıkan şiddetli hiperglisemi, dermal kollajen gibi hücreler makromoleküllerde oksidatif hasara neden olmakla kalmaz, aynı zamanda nükleer faktör kappa B'nin (NF-kB) transkripsiyon faktörünün aktivasyonunu da modüle eder. Bu çalışmada, farklı glikoz konsantrasyonlarında metformin tedavisinin insan primer dermal fibroblastların (PDF'ler) proliferasyonu ve apoptozisi üzerindeki in vitro etkilerini, ayrıca metforminin yaşlı fibroblastların büyümesini düzenleyebileceği olası mekanizmalar olarak COL1A1, COL3A1, RELA / p65 genlerinin ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırdık.

Gereç-Yöntem: Normal (5.5 mM) ve yüksek glikoz konsantrasyonunda (50 mM), iki farklı metformin dozunun (50 µM ve 500 µM) PDF proliferasyonu üzerindeki etkileri, BrdU immün boyama tekniği ile incelenmiştir. Apoptotik düzeyler ise akış sitometresi ile analiz edilmiştir. COL1A1, COL3A1, RELA / p65 genlerinin ekspresyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) ile ölçülmüştür.

Bulgular: Yüksek konsantrasyonda glikoz ile muamele edilmiş PDF'lerin proliferasyon düzeyleri önemli ölçüde azalırken, metformine maruz kalan yüksek glikoz ortamındaki hücrelerin proliferasyonu belirgin şekilde artmıştır. Özellikle yüksek glikoz koşullarında COL1A1 mRNA'sı, 500 µM metformin ile muamele edildiğinde hücrelerde önemli ölçüde artarken, muamele görmemiş yüksek glikoz grubuyla karşılaştırıldığında metformin COL3A1 ekspresyonunu baskılamıştır. İki metformin konsantrasyonu, her iki glikoz ortamında da doza bağlı bir şekilde RELA ekspresyonunu hafifçe düşürmüştür ve bu düşüş, 50 µM metforminde değil 500 µM metforminde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Akış sitometri analizi, metformin ile tedavi edilen grupların hiçbirinde anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Sonuç: Metformin yaşlı insan cildinden elde edilen PDF'lerde düşük ve yüksek glukoz konsantrasyonlarında,

sadece RELA / p65 ekspresyonunu önemli ölçüde düşürmekle kalmamış, aynı zamanda COL1A1 ve COL3A1 ekspresyonu yoluyla kontrol edilebilen doğrudan anti-aging bir etki yaratmıştır.

Metformin suppresses the cytotoxic effects of high glucose conditions on the fibroblasts of aged human skin

Tuğba Soydaş¹, Müge Sayitoğlu², Elif Yaprak³, Suzan Çınar⁴, Seyhun Solakoğlu³, Tunç Tiryaki⁵, Gönül Kanigür¹

¹Istanbul Aydın University Medical Faculty, Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul; ²Istanbul University-Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Medical Biology, Istanbul

³Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul

⁴Istanbul University, Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Istanbul

⁵Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Immunology, Istanbul

⁶Cellest Plastic Surgery Clinic, Altzeren sk. No: 5, Levent, Istanbul

Objective: Metformin has been successfully used as an anti-aging agent but its exact molecular mechanisms in anti-aging remain unknown. Severe hyperglycemia during skin aging not only causes an oxidative damage on cellular macromolecules, like dermal collagen, but also modulates the activation of transcription factor, nuclear factor kappa B (NF-kB). In the present study, we investigated in vitro effects of different concentrations of glucose with or without metformin treatment on proliferation and apoptosis of human primary dermal fibroblasts (PDFs), also on the expression of COL1A1, COL3A1, RELA/p65 genes as a possible mechanism by which metformin could modulate the growth of human aged fibroblasts.

Materials-Methods: The effects of normal (5.5 mM) and high glucose concentration (50 mM) on PDF proliferation, with or without two different doses of metformin (50 µM and 500 µM), were investigated by BrdU immunostaining. Apoptotic levels were analyzed by flow cytometer. Expression of COL1A1, COL3A1, RELA/p65 genes were measured by quantitative real-time PCR (qRT-PCR).

Results: Proliferation levels of high-glucose treated PDFs decreased significantly while metformin exposure led to increased proliferation of cells significantly in high glucose media. COL1A1 mRNA was significantly elevated by treatment with 500 µM metformin while 500 µM Metformin suppressed the expression of COL3A1 especially in high glucose conditions, compared with non-treated high glucose group. Two concentrations of metformin slightly decreased RELA expressions in a dose dependent manner for both glucose media, and this



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM

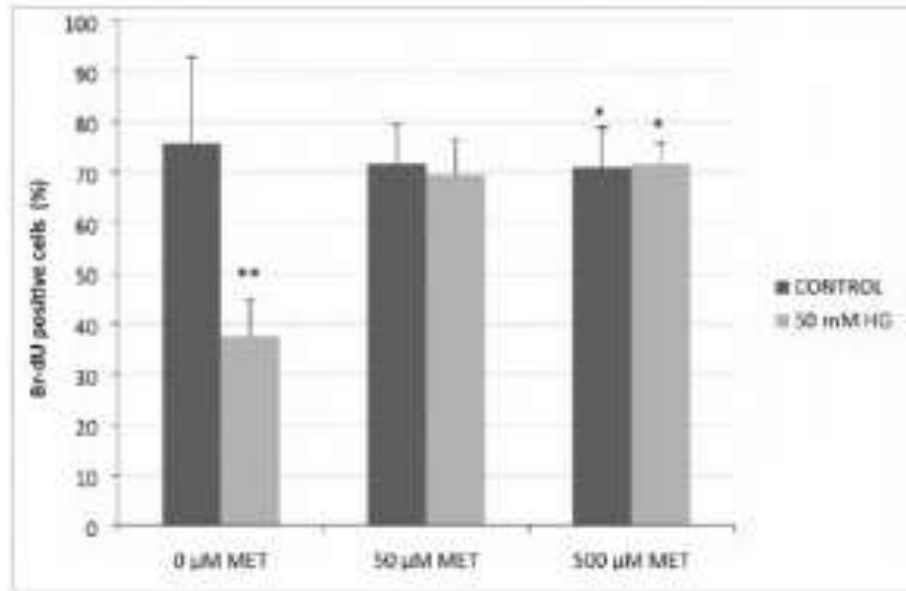


PS – 059 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

decrease was statistically significant with 500 μ M metformin but not with 50 μ M metformin. Flow cytometric analysis did not show any significant differences in any of metformin-treated groups.

Conclusion: Metformin not only decreased RELA/ p65 expression significantly, but also had a possible direct anti-aging effect on PDFs from aged human skin at low and high glucose concentrations which could be partially mediated via COL1A1 and COL3A1 expression.

Şekil 1
Figure 1



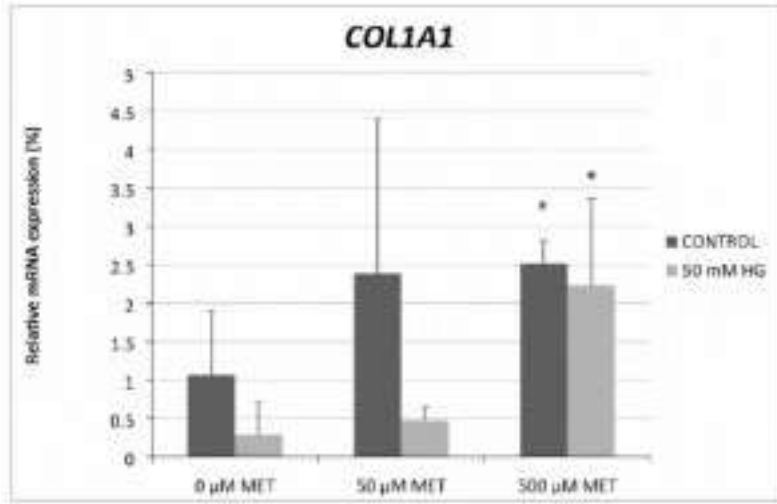
Mikrograflar ve dermal fibroblastın anti-BrdU immünohistokimyasal boyamasının, iki glikoz konsantrasyonunda (5.5 ve 50 mM HG) ve iki farklı metformin dozunda (50 ve 500 μ M MET) inkübe edilen yaşlı insan primer fibroblastındaki dağılımının istatistiksel analizini göstermektedir. Orijinal büyütme, X40. * $P < 0.05$, 50 mM HG grubuna göre; ** $P < 0.01$, kontrol ile karşılaştırıldığında. Değerler, beş ölçümün ortalama $\pm$ SD'ıdır.

Representative micrographs and statistical analysis of distribution of anti-BrdU immunocytochemical staining of dermal fibroblast in aged human primary fibroblast incubated in two dosage of high glucose (5.5 and 50 mM HG) and in two different dosage of metformin (50 and 500 μ M MET). Original magnification, X40. * $P < 0.05$ compared with 50 mM HG; ** $P < 0.01$ compared with control. Values are the mean $\pm$ SD of five measurements.



PS – 059 POSTER BİLDİRİ / HÜCRE YAŞLANMASI ve ÖLÜMÜ

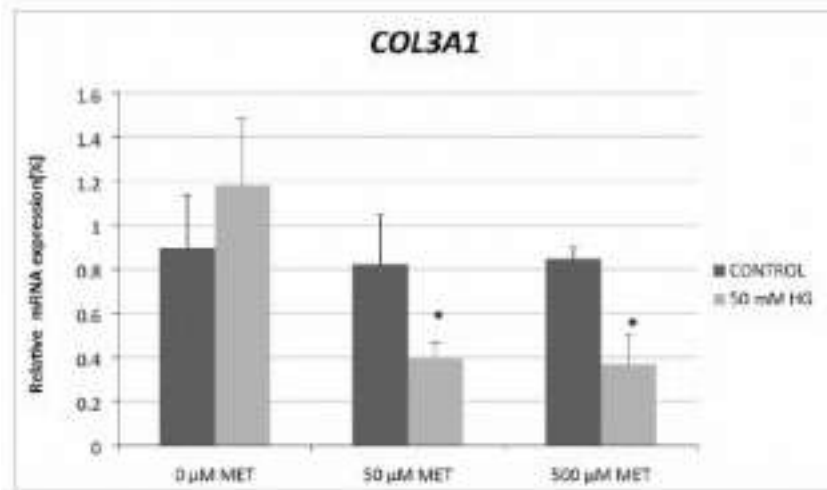
Şekil 2
Figure 2



İki doz glikoz (5.5 ve 50 mM HG) ve metformin (50 ve 500µM MET) tedavisinin, yaşlı insan derisindeki dermal fibroblastlarda COL1A1 ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkisi. Değerler, beş ölçümün ortalama $\pm$ SD'sidir. * 50 HG grubuna göre $P < 0.05$.

Effects of two dosage of glucose (5.5 and 50 mM HG) and metformin (50 and 500µM MET) treatment on COL1A1 expressions levels of dermal fibroblast in aged human skin. Values are the mean $\pm$ SD of five measurements. * $P < 0.05$ compared with 50 HG groups.

Şekil 3
Figure 3



İki doz glikoz (5.5 ve 50 mM HG) ve metformin (50 ve 500µM MET) tedavisinin, yaşlı insan derisindeki dermal fibroblastlarda COL3A1 ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkisi. Değerler, beş ölçümün ortalama $\pm$ SD'sidir. * 50 HG grubuna göre $P < 0.05$.

Effects of two dosage of glucose (5.5 and 50 mM HG) and metformin (50 and 500µM MET) treatment on COL3A1 expressions levels of dermal fibroblast in aged human skin. Values are the mean $\pm$ SD of five measurements. * $P < 0.05$ compared with 50 HG group.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ

MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 061 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Foxo Gen Ailesi Varyantlarının ve Global DNA Metilasyonunun RRMS Hastalığı Üzerindeki Etkisi

Tuba Gökdoğan Edgünlü¹, Yasemin Ünal², Sevim Karakaş Çelik³, Öyküm Genç⁴, Gülnihal Kutlu²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD.

³Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD

⁴Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Amaç: Multipl skleroz genç erişkinlerde görülen genellikle alevlenme ve düzelmelerle seyreden, santral sinir sistemi beyaz cevherini multipl lokalizasyonda etkileyen, genetik ve çevresel etmenlerin karmaşık etkileşimleri sonucu olduğu varsayılan, olasılıkla otoimmün, inflammatuar demyelinizasyon yanında akson kaybı ile seyreden kronik bir hastalıktır. Multipl sklerozda genetik faktörlerin rolü olabileceği 30 yılı aşkın bir süredir bilinmesine rağmen, kesin etyoloji, genlerin ve çevrenin nispi rolleri henüz aydınlanmamıştır. Forkhead transkripsiyon faktörleri ailesinin O sınıfı (FOXO) FOXO1, FOXO3a üyeleri; hücre siklusu, apoptosiz, DNA tamiri, hücrel resistans ve metabolizma içeren çeşitli hücrel süreçlerin düzenlenmesinde sorumlu tutulmaktadırlar. Araştırmamızda hastalık patogenezinde daha önce defalarca etkisi tespit edilmiş olan sirtuinin regüle ettiği FOXO3a (rs2253310 rs4966936) FOXO1 (rs3900833, rs4581585) gen familyasının genetik varyantlarının etkisi ve global DNA metilasyonu araştırıldı.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda genetik varyantların tespiti için 104 RRMS hastası ve 79 sağlıklı bireyden elde edilen DNA ile PCR-RFLP yöntemiyle analizleri gerçekleştirildi. Global DNA metilasyonunun tespiti için ise, ELISA yöntemi kullanılarak sonuçlar elde edildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Yaptığımız analizlerin sonucunda; epigenetik bir etken olan global DNA metilasyonunun RRMS hastalarında kontrol bireylerine kıyasla yüksek olduğu, hastalık üzerinde etkili olabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca genotipler yapılmış olan, FOXO3a (rs2253310, rs4966936) ve FOXO1 (rs3900833) varyantlarının da hastalık patogenezinde etkili olabileceği tespit edilmiştir.

Sonuç: Elde edilen veriler, DNA metilasyonu ve FOXO gen varyantlarının, RRMS'deki nöronal kayıpta etkili olabileceğini göstermektedir.

The Effect of Foxo Gene Family Variants and Global DNA Methylation on RRMS Disease

Tuba Gökdoğan Edgünlü¹, Yasemin Ünal², Sevim Karakaş Çelik³, Öyküm Genç⁴, Gülnihal Kutlu²

¹Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

²Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Neurology

³Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Department of Medical Genetic

⁴Bülent Ecevit University Faculty of Science Department of Molecular Biology and Genetic

Objective: Multiple sclerosis is a chronic disease that usually occurs with exacerbations and remissions in young adults, affects the central nervous system white matter in multiple localization, and is thought to be the result of complex interactions of genetic and environmental factors, the most common form is relapsing-remitting MS. Forkhead transcription factors O class (FOXO) are responsible for the regulation of various cellular processes including cell cycle, apoptosis, DNA repair, cellular resistance and metabolism. DNA methylation is such an epigenetic change and has been shown to be associated with almost any biological process. The aim of our study to show the relation between the genetic variants of FOXO3a (rs2253310 rs4966936) and FOXO1 (rs3900833, rs4581585) and global DNA methylation in RRMS.

Materials-Methods: We analyzed DNA obtained from 104 RRMS patients and 79 healthy individuals by PCR-RFLP method for the detection of genetic variants. For the determination of global DNA methylation, results were obtained using ELISA method. The data were evaluated statistically.

Results: As a result of our analysis; global DNA methylation is higher in RRMS patients compared to control individuals and it can be effective on the disease. In addition, it has been determined that variants of FOXO3a (rs2253310, rs4966936) and FOXO1 (rs3900833), which have been genotyped, may be effective in disease pathogenesis.

Conclusion: These results suggest that DNA methylation and FOXO gene variants may be effective in neuronal loss in RRMS.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 062 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Metamfetamin bağımlılarında prodnorfın gen varyantları ve serum düzeylerinin analizi

Güliz Şenormancı¹, Çetin Turan¹, Sevim Karakaş Çelik², Aycan Çelik⁵, Tuba Gökdoğan Edgünlü³, Dilek Akbaş⁴, Ayşe Semra Akça⁶, Ömer Şenormancı¹

¹Bursa Yüksek İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi Psikiyatri AD.

²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.

³Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

⁴Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

⁵Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri AD.

⁶Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Amaç: Metamfetamin dünyada kannabisten sonra en sık kullanılan yasa dışı maddedir. Psikoaktif maddeler dünya genelinde ciddi bir sorundur. Doğrudan olmayan bir şekilde dopamin sistemi üzerinde düzenleme yapan proteinleri kodlayan genler de madde bağımlılığı gelişimi için katkıda bulunabilirler. Epigenetik, çevresel faktörler ve DNA polimorfizmi beraberce beyindeki bağımlılık merkezindeki normal nörotransmitter akışını bozarak dürtüsel, kompulsif ve bağımlılık davranışına neden olurlar. Metamfetaminin tekrarlayan uygulamaları prodnorfın gen ekspresyonunun ve dinorfın peptitlerin dorsal ve ventral striatuma anlamlı olarak artmasıyla sonuçlanır. Çalışmamızın amacı, metamfetamin bağımlılığında prodnorfın gen varyantlarının sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması ve prodnorfın serum düzeylerinin metamfetamin yoksunluğuna bağlı değişimlerinin incelenmesidir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi AMATEM (Madde Bağımlılığı Tedavi Merkezi)'de metamfetamin bağımlısı tanısı konmuş 134 hasta (çalışma grubu) ve herhangi bir madde bağımlılığı olmayan 97 sağlıklı birey (kontrol grubu) dahil edilmiştir. Örneklerden kit yardımıyla DNA izole edilerek Prodnoşın geni rs1997794, rs1022563, rs6045819, rs2235749 polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi ile analiz edilmiştir. Ayrıca ELISA yöntemi ile serum prodnorfın düzeyleri tespit edilmiştir.

Bulgular: Sonuç olarak, hastalığın yoksunluk döneminde kontrollere kıyasla serum prodnorfın düzeyinde belirgin bir artış tespit edilmiştir ($p=0.003$). Negatif aşerme arttıkça da yoksunluk dönemine kıyasla serum prodnorfın düzeyinde azalma tespit edilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Metamfetamin bağımlılarından oluşan grubun genotip frekansları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise rs1997794, rs6045819 ve rs2235749 polimorfizmleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.37$, $p=0.3$, $p=0.06$)

Sonuç: Metamfetaminin tekrar kullanılmasına neden olan en önemli faktörlerden biri olan rahatsız edici yoksunluk bulguları ve negatif aşermedir. Bu sonuç prodnorfın seviyesi ile negatif aşerme belirtileri arasında ilişki olabileceğine işaret etmektedir.

Analysis of prodnorphine gene variants and serum levels in methamphetamine addicts

Güliz Şenormancı¹, Çetin Turan¹, Sevim Karakaş Çelik², Aycan Çelik⁵, Tuba Gökdoğan Edgünlü³, Dilek Akbaş⁴, Ayşe Semra Akça⁶, Ömer Şenormancı¹

¹Bursa High Specialized Training and Research Hospital Department of Psychiatry

²Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Department of Medical Genetic

³Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

⁴Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Science Department of Molecular Biology and Genetics

⁵Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Department of Psychiatry

⁶Bülent Ecevit University Faculty of Science Department of Molecular Biology and Genetics

Objective: Methamphetamine is the most commonly used in the world after cannabis. Psychoactive substances are serious problems worldwide. Genes encoding proteins that regulate directly on the dopamine system may also contribute to the development of substance dependence. Repeated administration of methamphetamine results in a significant increase in prodnorphine gene expression and dinorphine peptides in the dorsal and ventral striatum. The aim of our study is to compare the genetic variant of prodnorphine in case and healthy controls. Also, we investigated the changes of prodnorphine serum levels due to methamphetamine withdrawal.

Materials-Methods: This study included 134 patients (study group) diagnosed as methamphetamine addict in AMATEM (Substance Addiction Treatment Center) of Health Sciences University Bursa Training and Research Hospital and 97 healthy subjects (control group) without any substance addiction. DNA isolated from the samples by DNA extraction kit. We analyzed prodnorfın gene rs1997794, rs1022563, rs6045819, rs2235749 polymorphisms with PCR-RFLP. Serum prodnorphine levels were determined by ELISA method.

Results: We have shown a significant increase in serum prodnorphine levels in the withdrawal period of the disease compared to controls ($p=0.003$). As negative craving increased, serum prodnorphine level decreased compared to the withdrawal period and no statistically significant difference was found. When the genotype frequencies of the group consisting of methamphetamine addicts were compared with the control group, no statistically significant difference was found between the groups in rs1997794, rs6045819 and rs2235749 polymorphisms ($p=0.37$, $p=0.3$, $p=0.06$, respectively).

Conclusion: One of the most important factors causing re-use of methamphetamine is disturbing withdrawal symptoms and negative craving. This result may suggest that there may be a relationship between prodnorphine level and negative craving symptoms.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 063 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Majör depresyon bozukluğu ile NEGR1 geni ilişkisinin araştırılması

Mujgan Cengiz¹, Gülseren Billur Akdeniz¹, Burcu Bayoğlu¹, Neşe Kocabaşoğlu²

¹Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.D., İstanbul

²Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D., İstanbul

Majör depresyon bozukluğu (MDB), üzüntü, ilgi ya da zevk kaybı, iştah azalması, suçluluk duygusu, uyku bozukluğu, yorgunluk hissi görülen bir psikiyatrik hastalıktır. MDB prevalansı yaklaşık %13'dür. MDB'ye sahip olan bireyler arasında yapılan genetik araştırmalar sonucunda bu hastalığın gelişiminde genetik ve çevresel etmenlerin rol oynadığı belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda MDB'nin nörogenez ile ilgili genlerle ilişkili olduğu bulunmuştur.

NEGR1 (nöronal büyüme regülatörü 1) geni, 1. kromozomun p31.1 bölgesinde bulunmaktadır. Nörit ve sinaps oluşumundan sorumlu olan birkaç protein ailesinden biri olan IgSF'nin (Immunglobulin süper ailesi) bir üyesi ve sinaptik trans membran proteinidir. NEGR1 geninin MDB ile olan ilişkisini araştıran çalışmalar bulunmaktadır, ancak bu mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada, MDB teşhisi konulan 40 hasta ve 40 kontrol örneği kullanıldı. Her iki gruptan alınan kan örnekleri ile lenfositler izole edildi. Çalışmada hasta, kontrol ve her iki gruba fluoksetin uygulanarak NEGR1'in gen aktivitesi ve protein düzeyi ölçüldü. Çalışmamızda hücre kültürü, RT-PCR ve ELISA yöntemleri kullanıldı. MDB ve kontrolde NEGR1 protein düzeyi açısından anlamlı bir sonuç bulundu ($p=0.01$). Fluoksetin (+) MDB grubunda NEGR1 mRNA düzeyleri ile protein düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı olarak korelasyon tespit edildi ($p=0.002$; $r=0.80$). Fluoksetin (+) MDB ve MDB grupları arasında NEGR1 protein düzeyleri açısından anlamlı bir sonuç bulunamadı ($p=0.78$). Fluoksetin (+) MDB grubunun NEGR1 protein düzeyi ile psikiyatrik bir ölçek olan Beck skoru arasında pozitif yönde bir korelasyon bulundu ($p=0.03$; $r=0.33$). Sonuç olarak MDB grubunda mRNA ve protein düzeylerinin kontrollerden farklı bulunması bu genlerin MDB'da etkili olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 24637

The relationship of NEGR1 gene with major depressive disorder

Mujgan Cengiz¹, Gülseren Billur Akdeniz¹, Burcu Bayoğlu¹, Neşe Kocabaşoğlu²

¹Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

²Department of Psychiatry, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

Major depressive disorder (MDD) is a psychiatric disorder which is characterized by sadness, loss of interest or pleasure, feelings of guilt, low self-esteem, sleep disorder or appetite feeling, fatigue and poor concentration. The prevalence of MDD is approximately 13%. It is reported that both genetic and environmental factors may play a role in MDD. It is found that MDD is related with the neurogenesis genes.

NEGR1 (neuronal growth regulator 1) gene is located on chromosome 1, p31.1 region. There are some studies about the association of NEGR1 gene and MDD. NEGR1 is a member of IgSF (immunoglobulin super family). There are researches about the relationships of NEGR1 gene with MDD. But the mechanism cannot be fully understood.

In this study, 40 patients with MDD and 40 control subjects were used. Lymphocytes were isolated from blood samples of both groups. In this study, mRNA and protein levels of NEGR1 were measured by applying fluoxetine to both groups. Cell culture, PCR and ELISA methods were used in our study. NEGR1 protein levels were found statistically significant between MDD and control groups ($p=0.01$). A positive correlation was found in NEGR1 protein levels between fluoxetine treated MDD group and psychiatric scale Beck score ($p=0.03$; $r=0.33$).

As a conclusion the difference of the mRNA and protein levels of the patients and control may show us this gene have an important role in MDD development.

This study was supported by Istanbul University-Cerrahpaşa Scientific Research Projects Unit. Project No: 24637



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 064 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Alzheimer Hastalığı Periferik Kan Mononükleer Hücrelerinde Long Non-coding RNA'ların Araştırılması

Serap Kurt¹, Ayşe Gaye Tomatır², Pervin Elvan Tokgün³

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, İzmir

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli

³Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Denizli

Amaç: Alzheimer Hastalığı (AH), ileri yaşta en sık görülen, amiloid beta peptid ve nörofibriller yumak birikimi ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Uzun kodlamayan RNA' lar (lncRNAs) hedef genin ekspresyonunun transkripsiyonel, post-transkripsiyonel ve epigenetik regülasyonunda rol almaktadır. Son araştırmalarda birçok lncRNA'nın AH' de sinir sisteminde amiloid beta (A β) üretimini ve sinaptik kaybı regüle ettiği gösterilmiştir. Araştırmamızda AH' de ekspresyonları değişen ve hastalığın patogenezinde rol alabileceğini düşündüğümüz lncRNA' ları belirlemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalardan (23 kişi Alzheimer hastası; 33 kişi kontrol grubu) gönüllü onam formu ve etik kurul izni ile periferik kan örnekleri alındı. AH' de lncRNA' ların değişen ekspresyonlarını incelemek için, muhtemel AH teşhisi alan bireylerin (n=4) ve sağlıklı kontrol gruplarının (n=4) periferik kan-mononükleer hücrelerinden (peripheral blood mononuclear cells=PBMC) elde edilen total RNA' lar mikroarray analizi ile değerlendirildi. Analiz sonucu kat değişimi en fazla olan ($fc < 1.5$ / $fc > 1.5$) lncRNA' lar belirlenerek, bazılarının ekspresyonu hasta ve kontrol gruplarında kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile araştırıldı.

Bulgular: Çalışmamızda AH' ları ile kontrol grubu mikroarray sonuçları özel bir filtreleme yöntemi ile analiz edilerek hastalık patogenezi ile ilişkili olabilecek lncRNA' ların profilleri belirlendi. Mikroarray analizi sonucunda toplamda 31 downregüle ve 41 upregüle lncRNA saptanmış olup bu lncRNA' lardan, lnc-AL445989.1-2, LINC01420, TTC39C-AS1, lnc-CSTB1 ve LOC728763' ün ekspresyonları qRT-PCR ile değerlendirildi ve doğrulandı. AH periferik kan-mononükleer hücrelerinde lncRNA profilleri KEGG analizi ile değerlendirildiğinde; lncRNA' ların bazı metabolik yollarla anlamlı ilişkisi belirlendi. Bunlar; TNF sinyal yolağı, PI3K/AKT, Ras, MAPK yolları; glutamaterjik, dopaminergik, kolinerjik sinapslar; GABA ve nörotrofin sinyal yollarıdır.

Sonuç: Araştırmamız, mRNA' lara göre daha doku-spesifik olan lncRNA' ların, AH PBMC' lerinde lncRNA profillerinin belirlenmesi açısından, bildiğimiz kadarıyla ilk olma özelliği taşımaktadır. Bu bulguların AH

patogenezinde bilgi verici rolü olduğunu ve ileri çalışmalarla desteklenebileceğini düşünmekteyiz.

Investigation of Long Non-coding RNAs in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Alzheimer's Disease

Serap Kurt¹, Ayşe Gaye Tomatır², Pervin Elvan Tokgün³

¹Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, İzmir

²Pamukkale University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Denizli

³Pamukkale University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Denizli

Objective: Alzheimer's Disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by accumulation of amyloid beta plaques, neurofibrillary tangles in the brain, the most common in elderly. Long non-coding RNAs are known to regulate gene expression at transcriptional, post-transcriptional and epigenetic levels. Recent studies have shown that many lncRNAs regulate amyloid beta production and synaptic loss in the nervous system in AD. In our study, we aimed to determine the expression of lncRNAs in AD which may alter expression and contribute to the pathogenesis of AD.

Materials-Methods: In our study, we aimed to determine expression of lncRNAs in AD which may alter expression and contribute to the pathogenesis of the disease. Peripheral blood samples were obtained from patients and controls (n=23, n=33) with voluntary consent form and ethics committee. Total RNA obtained from peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of subjects with AD (n = 4) and healthy control groups (n = 4) was examined to determine altered expression of lncRNAs in AD were evaluated by microarray analysis. lncRNAs with the highest end-to-end fold-change ($fc < 1.5$ / $fc > 1.5$) were identified and quantified by quantitative real time polymerase chain reaction in patient and control groups were confirmed.

Results: In this study, the profiles of lncRNAs that may be associated with AD were determined. A total of 31-downregulated and 41-upregulated lncRNAs were detected as a result of microarray analysis. From these, expression of five lncRNAs were confirmed by qRT-PCR. When assessed by KEGG analysis of AD PBMC lncRNA profiles; lncRNAs were significantly associated with some metabolic pathways include TNF signaling pathway, PI3K/AKT, Ras, MAPK pathways; GABA and neurotrophin signaling pathways.

Conclusion: Our study is the first to identify lncRNA profiling in AH PBMCs of more tissue-specific lncRNAs compared to mRNAs. We think these findings are informative in the pathogenesis of AD and can be supported by further studies.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 065 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Dopamin β -hidroksilaz enziminin erken başlangıçlı Parkinson hastalığına yakınlıkla ilişkisinin değerlendirilmesi

İşıl Ezgi Eryılmaz¹, Sevda Erer², Dilara Kamer Colak¹, Mehmet Zarifoğlu², Ünal Egeli¹, Gülşah Çeçener¹, Berrin Tunca¹, Ece Karakuş³

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Bursa

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, Bursa

³Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bursa

Dopamin β -hidroksilaz (DBH), dopamin/noradrenalin metabolizasyonundan sorumlu hız sınırlayıcı ana enzimdir. *DBH* geninin promotör bölgesinde yer alan rs161115 (-1021C>T) kodlu fonksiyonel tek nükleotid polimorfizminin *DBH* enziminin plazma enzim aktivitesini düzenlediği rapor edilmiştir. Farklı etnik gruplarda gerçekleştirilen araştırmalarda, *DBH* rs161115 polimorfizmi ve Parkinson hastalığı (PD) patogenezi arasındaki ilişki ile ilgili çelişkili sonuçlar mevcuttur. Mevcut çalışmada *DBH* rs161115 polimorfizminin Türk popülasyonunda erken başlangıçlı PD (EOPD) yakınlığındaki olası etkileri ilk kez araştırılmıştır. Çalışmaya 64'ü erkek 50'si kadın olan toplam 114 EOPD hastası ve kontrol grubu olarak hastaların cinsiyet ve yaşları ile uyumlu 58 sağlıklı birey dahil edildi. Hastalara ve kontrol grubuna ait periferik kan örneklerinden elde edilen genomik DNA'da *DBH* rs161115 polimorfizmi PCR-temelli restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) ve DNA dizi analizi ile değerlendirildi. 114 EOPD hastasında *DBH* rs161115 polimorfizminin genotipik ve allelik frekansları değerlendirildiğinde; CC, CT ve TT genotip frekansları sırasıyla %54.4, %42.1 ve %3.5; kontrol grubunda ise sırasıyla %44.8, %50 ve %5.2 olarak belirlendi. *DBH* rs161115'in genotipik ve allelik frekanslarında EOPD hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Elde edilen bulgular, Türk popülasyonunda *DBH* rs161115 polimorfizminin EOPD'ye yakınlıkta bir katkısı olmadığını, popülasyonumuzda EOPD yakınlığı ile ilişkilendirilebilecek dopamin metabolizmasını etkileyen diğer genetik varyasyonların değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Evaluation of the association of dopamine β -hydroxylase enzyme with susceptibility of early onset Parkinson's disease

İşıl Ezgi Eryılmaz¹, Sevda Erer², Dilara Kamer Colak¹, Mehmet Zarifoğlu², Ünal Egeli¹, Gülşah Çeçener¹, Berrin Tunca¹, Ece Karakuş³

¹Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Bursa, Turkey

²Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Neurology Department, Bursa, Turkey

³Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Bursa, Turkey

Dopamine β -hydroxylase (DBH) is the main rate-limiting enzyme responsible for dopamine/noradrenaline metabolism. The functional single nucleotide polymorphism rs161115 (-1021C>T) in the promoter region of the *DBH* gene has been reported to regulate plasma enzyme activity of the enzyme. In studies conducted in different ethnic groups, there are conflicting results regarding the association between *DBH* rs161115 polymorphism and Parkinson's disease (PD) pathogenesis. In the present study, the possible effects of *DBH* rs161115 polymorphism on early onset PD (EOPD) susceptibility in the Turkish population were investigated for the first time. A total of 114 EOPD patients, 64 of whom were male and 50 were female, and sex- and age- matched 58 healthy individuals as control group were included in the study. *DBH* rs161115 polymorphism was evaluated by PCR-based restriction fragment length polymorphism (RFLP) and DNA sequence analysis in genomic DNA obtained from peripheral blood samples of patients and control group. When the genotypic and allelic frequencies of *DBH* rs161115 polymorphism were evaluated; CC, CT and TT genotype frequencies were %54.4, %42.1 and %3.5 in 114 EOPD patients; %44.8, %50 ve %5.2 in the control group respectively. There was no significant difference in genotypic and allelic frequencies of *DBH* rs161115 between EOPD patients and control group. The findings show that *DBH* rs161115 polymorphism does not contribute to EOPD susceptibility in Turkish population and that other genetic variations affecting dopamine metabolism that may be associated with EOPD susceptibility should be evaluated in our population.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 066 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati tanılı hastalarda tanımlanan yeni ve de novo mutasyonlar

Deniz Sünnetçi Akkoyunlu¹, Bülent Kara², Naci Çine¹, Elif Büşra Işık¹, Bilge Dursun¹, Nurhan Külcü¹, Seda Eren Keskin¹, Hakan Savlı¹

¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Çocuk Nörolojisi Bölümü, Kocaeli

Amaç: Epileptik Ensefalopati (EE), süt çocukluğu ve erken çocukluk döneminin en yaygın ve şiddetli heterojen hastalığı olarak bilinmektedir. EE'nin genetik ve fenotipik heterojenitesi tanıyı güçleştirirken aynı zamanda tedaviyi de olumsuz yönde etkilemektedir. Hedef gen paneli dizi analizleri, klinikte hastalığa sebebiyet veren genetik defektlerin ortaya çıkarılmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu retrospektif çalışmada, EE tanılı 117 hastanın dizi analizi sonuçlarının sunulması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Kasım 2017-Nisan 2019 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvurusu olan 117 hasta, özel olarak tasarlanmış, 55 bilinen EE geni içeren gen paneli ile analiz edilmiştir. Saptanan varyantların patojenisitesinin değerlendirilmesinde ebeveyn testi, segregasyon analizleri ve in silico araçlar kullanılmıştır.

Bulgular: Yirmi beş hastada (%21.37) 23 patojenik (P) ve olası patojenik (LP) varyant saptanmıştır. Bu varyantlardan % 65.22'si (15/23) de novo, % 56.52'si (13/23) yeni mutasyon olarak karşımıza çıkmıştır. İyon kanalı genlerindeki varyantlar, en büyük fonksiyonel gen kategorisini (% 56.52) oluştururken, bu genler arasında SCN1A ilk sırada yer almıştır (8/23). SCN1A mutasyonlarının % 87.5'i (7/8) de novo, % 62.5'i (5/8) ise yeni mutasyonlar olarak bulunmuştur. Süt çocukluğunun malign migratuar parsiyel nöbeti (SMMPN)'nde PLCB1 geninde, Dravet sendromunda SCN1A geninde, West sendromunda STXBP1, SCN1A, SLC35A2 genlerinde çeşitli patojenik ve olası patojenik varyantlar tespit edilmiştir. Herhangi bir sınıfa dahil edilememiş epileptik ensefalopati hastalarında ise SCN1A, SCN2A, SCN8A, NECAP1, PCDH19, FGF12, WWOX, STXBP1, KCNQ2 ve CDKL5 genlerinde mutasyonlar saptanmıştır. Vigabatrin, inozitol 1,4,5-trifosfat (IP3) ve galaktoz tedavileri sırasıyla STXBP1, PLCB1 ve SLC35A2 mutasyonu olan hastalarda etkili bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda saptanan P ve LP varyantların tanısal değeri (% 21.37), önceki EE çalışmalarındakine benzer bulunmuştur. Hedef gen paneli analizlerinin, EE'nin genetik sebeplerini ortaya koymada ve tedavide gene yönelik antiepileptik ilaçları önermede oldukça etkili bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

Novel and de novo mutations in patients with early-onset epileptic encephalopathy

Deniz Sünnetçi Akkoyunlu¹, Bülent Kara², Naci Çine¹, Elif Büşra Işık¹, Bilge Dursun¹, Nurhan Külcü¹, Seda Eren Keskin¹, Hakan Savlı¹

¹Medical Genetics Department, Faculty of Medicine, Kocaeli University, Kocaeli, Turkey

²Division Of Child Neurology, Department Of Child Health And Diseases, Faculty Of Medicine, Kocaeli University, Kocaeli, Turkey

Objective: Epileptic Encephalopathy (EE) is the most common and severe heterogeneous disease in infancy and early childhood. Genetic and phenotypic heterogeneity of EE make diagnosis difficult and affect treatment adversely. Targeted gene panel sequencing are used to identify causative genomic defects in clinical settings. Here, we report sequencing results from a cohort of 117 patients with EE retrospectively.

Materials-Methods: We performed a custom designed gene panel sequencing with 55 known EE genes to asses 117 patients admitted to the Medicine Faculty of Kocaeli University from October 2017 to April 2019. We used parental testing, segregation analysis and in silico tools for the assessment of variant pathogenicity.

Results: We identified 23 pathogenic or likely pathogenic variants in 25 patients (21.37 %). Among these variants, 65.22 % of mutations (15/23) were de novo and 56.52 % of mutations (13/23) were novel. Variants in ion channel genes accounted for the greatest functional gene category (56.52 %), with SCN1A coming first (8/23). 87.5 % (7/8) of SCN1A mutations were de novo and 62.5 % (5/8) were novel. Pathogenic or likely pathogenic variants were found in the PLCB1 gene in malignant migrating partial seizures of infancy (MMPsi), in the SCN1A gene in Dravet syndrome, in the STXBP1, SCN1A, SLC35A2 genes in West syndrome. Other deleterious variants were also found in unclassified epilepsy patients involve the SCN1A, SCN2A, SCN8A, NECAP1, PCDH19, FGF12, WWOX, STXBP1, KCNQ2 and CDKL5 genes. Vigabatrin and inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) and galactose was found effective in patients with STXBP1, PLCB1 and SLC35A2 mutations, respectively.

Conclusion: The diagnostic rate (21.37 %) of P and LP variants was similar to previous studies of early-onset EE. Targeted gene panel sequencing is an efficient tool to identify the genetic causes of EE and to recommend gene-specific antiepileptic drugs.



PS – 067 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Obez Sıçan Modelinde Pankreas ve Hipokampus Dokularında UCP2 Gen Analizi

Zeynep Ulukütük¹, Sibel Oğuzkan Balcı¹, Can Demirel², İbrahim Yılmaz², Murat Korkmaz¹, Ersin Akarsu³

¹Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

²Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Gaziantep

³Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Gaziantep

Obezite, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet gibi birçok kompleks hastalık ile ilişkili bir risk faktörüdür. Bu nedenle obeziteye neden olan moleküler mekanizmaların aydınlatılması önemlidir. Kan glikoz seviyesinin düzenlenmesi ve enerji metabolizmasında etkili olan pankreas, diyabet ve obezite gelişiminde önemli bir organdır. Mitokondriyal “uncoupling” protein 2 (UCP2) pankreasta insülin ve glukagon salınımını düzenlerken, hipokampustaki UCP2 nöronal yenilenmede rol oynayarak öğrenme süreçlerine etki etmektedir. Bu araştırmada obez sıçan modelinde hipokampus ve pankreas dokularında Ucp2 gen ifadesi ile öğrenme arasındaki olası ilişkiler araştırıldı. Bu amaçla planlanmış olan çalışmada Wistar albino yetişkin erkek sıçanlarda deneysel obezite modeli oluşturuldu. Deneylerde 8 obez, 8 kontrol olmak üzere 16 adet hayvan kullanıldı. Gruplara öğrenme testi uygulandıktan sonra hipokampus ve pankreas dokuları disektse edildi. Gerçek zamanlı kantitatif RT-PCR yöntemi kullanılarak dokularda Ucp2 gen ifade düzeyleri belirlendi. İstatistiksel analizde gen ifade düzeylerinin karşılaştırılması Qiagen veri analizi programı ile, öğrenme verilerinin değerlendirilmesi ise student-t testi ile yapıldı. İstatistiksel analizler sonucunda; hipokampus dokusunda Ucp2 gen ifade düzeyinin obez grupta kontrol grubuna göre arttığı ve istatistiksel olarak sınırda anlamlı olduğu ($p=0,05$), pankreasta ise gruplar arasında fark olmadığı ($p=0,94$) sonucuna varıldı. Öğrenme performansları karşılaştırıldığında ise obez grupta öğrenme performansının kontrole kıyasla daha düşük olduğu saptandı ($p=0,001$). Sonuç olarak obezitenin öğrenme performansını azalttığı bulundu. Ucp2 gen ifadesinin hipokampusta artmış olması ise obezitede nöronal sağ kalım için hücrelerin savunması olarak yorumlandı. Obezite ve öğrenme arasındaki ilişkinin moleküler düzeyde analizini amaçlamış olan bu araştırma sonuçları yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacaktır.

UCP2 Gene Analysis of Pancreas and Hippocampus Tissues in Obese Rat Model

Zeynep Ulukütük¹, Sibel Oğuzkan Balcı¹, Can Demirel², İbrahim Yılmaz², Murat Korkmaz¹, Ersin Akarsu³

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

²Department of Biophysics, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

³Department of Endocrinology and Metabolism, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

Obesity is a risk factor associated with many complex diseases such as cardiovascular diseases, type 2 diabetes. It is important to elucidate the molecular mechanisms that cause obesity. Pancreas, which is effective in energy metabolism by affecting blood glucose level, is an important in diabetes and obesity. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in the pancreas regulates the release of insulin and glucagon. UCP2 in the hippocampus affects learning processes by playing a role in neuronal regeneration. In this study, possible relationships between learning and Ucp2 gene expression in hippocampus and pancreas were analyzed in obese rats. An experimental obesity model was established in Wistar albino adult male rats. In the experiments, 16 animals, 8 obese and 8 controls were used. Hippocampal and pancreatic tissues were dissected. Ucp2 gene expression level was determined in tissues using RT-quantitative-PCR method. Qiagen data analysis was used for the comparison of gene expression levels. The evaluation of the learning data was done by the student-t test. The level of Ucp2 gene expression in the hippocampus was increased in the obese group compared to the control group and statistically significant at the border ($p=0,05$), not different in the pancreas ($p=0,94$). When the learning performance were compared, it was found that lower in the obesities than the controls ($p=0,001$). Obesity was found to reduce learning performance. The increased expression of the Ucp2 gene in the hippocampus was interpreted as a defense of cells for neuronal survival in obesity. Our results will contribute to the researches to be done in this regard.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 068 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Prediyabetik Hayvan Modelinde Metformin Tedavisinin BDNF Gen İfadesi ve Bilişsel Fonksiyonlar Üzerindeki Etkisi

İbrahim Halil Çitçi¹, Sibel Oğuzkan Balcı¹, Can Demirel², İbrahim Yılmaz², Murat Korkmaz¹, Ersin Akarsu³

¹Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

²Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Gaziantep

³Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Gaziantep

Prediyabet, Dünya’da sıklığı artmakta olan bir hastalıktır. Prediyabet, makro ve mikrovasküler komplikasyonlara, glukoz toksisitesine, hiperinsülinemi ve bilişsel fonksiyon bozukluklarına neden olabilmektedir. Ayrıca prediyabete sıklıkla eşlik eden obezite de bilişsel fonksiyon bozukluklarının ortaya çıkmasında bir risk faktörü olarak rol almaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar merkezi sinir sisteminin vücut kitlesinin düzenlenmesindeki rolüne dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, prediyabetik hayvan modelinde; hipokampus bölgesinde beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) geni ifadesi ile öğrenme arasındaki olası ilişkinin metformin tedavisi ile karşılaştırılmalı olarak analizi yapıldı. Çalışmada 32 Wistar albino rat kullanıldı. Deneysel prediyabet oluşturmak için denekler yüksek yağlı diyet (HFD) ile beslendi. Prediyabetik model oluşturulduktan sonra bir gruba metformin tedavisi uygulandı. Kontrol, prediyabet ve metformin uygulanmış olan deney gruplarına Morris su tankı ile öğrenme testi uygulandı. Deneylerin sonunda hayvanlar sakrifiye edildi ve hipokampus bölgeleri izole edildi. Real-Time PCR kullanılarak hipokampal örneklerde BDNF gen ifadesi analizi yapıldı. Deney sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, HFD diyet ile indüklenmiş ratlarda kontrol gruplarındaki ratlara kıyasla öğrenme performanslarının daha düşük olduğu ve BDNF gen ifadesinde azalma olduğu saptandı ($p=0.04$). Metformin uygulanan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında öğrenme performansları ve BDNF gen ifadelerinde artış olduğu tespit edildi ($p=0.04$). Metformin uygulanan prediyabetik grup ile ilaç uygulanmayan prediyabetik grup karşılaştırıldığında ise öğrenme performansları ve BDNF gen ifadelerinde artış olduğu saptandı ($p=0.04$). Bu araştırma sonucunda, BDNF geninin prediyabetik hayvanlarda öğrenme performansı ve enerji dengesini düzenlediğine işaret eden bulgular saptandı. Bu çalışma BDNF geninin bilişsel fonksiyonlar ve enerji metabolizmasını düzenlemedeki rolünü inceleyen ilk çalışmadır, BDNF ve ilişkili moleküllerle yapılacak olan diğer araştırmalar için yol gösterici sonuçların elde edildiği düşünülmektedir.

The Effect of Metformin Treatment on BDNF Gene Expression and Cognitive Functions in Prediabetic Animal Model

İbrahim Halil Çitçi¹, Sibel Oğuzkan Balcı¹, Can Demirel², İbrahim Yılmaz², Murat Korkmaz¹, Ersin Akarsu³

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

²Department of Biophysics, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

³Department of Endocrinology and Metabolism, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

The prevalence of prediabetes is increasing rapidly in recent years. Prediabetes related factors such as macrovascular and microvascular complications, glucose toxicity, hyperinsulinemia have been suggested to be involved cognitive impairment in prediabetes; additionally risk factors that are linked to prediabetes; obesity can also cause cognitive impairments. In a recent human genome-wide association study, the role of the central nervous system in body mass regulation was strongly emphasized. In the present study, after prediabetes is induced by feeding wistar rats with high fat diets, the possible relationship between BDNF gene expression levels and learning-memory in the hippocampus which is the learning-related area in the brain will be investigated in the prediabetic animals. We assessed the importance of intact endogenous hypothalamic or hindbrain BDNF/TrkB signaling in the central regulation of energy balance with 32 Wistar rats respectively, comparing metabolic parameters and cognitive functions under high-fat diet or chow fed conditions. Our data show that when fed a high-fat diet, rats have significantly increased body weight and adiposity that is likely driven by reduced locomotor activity and core body temperature. In addition, under high fat diet conditions, rats show increased blood glucose levels and decreased cognitive functions ($p=0.044$). When Metformin administration rats show decreased blood glucose levels and increased cognitive functions ($p=0.042$). Taken together, our findings demonstrate that BDNF/TrkB is a novel metabolic and cognitive functions regulator and that enhanced signaling may contribute to the beneficial metabolic effects and cognitive functions.



PS – 069 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Parkinson hastalarında mitokondriyal kalite kontrol genleri ve vitamin D arasındaki ilişkisi

Pelin Sordu¹, Duygu Gezen Ak¹, Erdiñ Dursun¹, Merve Alaylıoğlu¹, Büşra Şengül¹, Ebru Keskin¹, İrem Lütüfiye Atasoy¹, Gencer Genç², Esra Koçhan³, Zeynep Ece Kaya Güleç³, Hülya Apaydın³, Sibel Ertan⁴

¹*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıkları Araştırma Ünitesi, İstanbul*

²*Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Bölümü, İstanbul*

³*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji Bölümü, İstanbul*

⁴*Koç Üniversitesi Hastanesi, Nöroloji Bölümü, İstanbul*

Mitokondri fonksiyon bozuklukları, Alzheimer hastalığı (AH) ve Parkinson hastalığı (PH) gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilidir. Ailesel PH vakalarının çoğu, mitokondriyal kalite kontrol mekanizmasının bir parçası olan PINK1 veya PARKIN genlerinde resesif mutasyonlar taşımaktadır. Vitamin D eksikliğinin nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olduğu pek çok popülasyonda gösterilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, vitamin D'nin PH'da mitokondriyal kalite kontrol mekanizması üzerinde etkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Çalışmada 101 Parkinson hastası ve herhangi bir nörodejeneratif hastalığı olmayan 44 sağlıklı bireyden alınan kan örneği kullanıldı. Bireylerin serum 25-OHD seviyeleri CLIA yöntemiyle belirlendi. Alınan kan örneklerinden RNA izolasyonu yapıldıktan sonra PINK1 ve PARKIN mRNA ekspresyon seviyesi qRT-PCR yöntemiyle belirlendi. Hasta ve sağlıklı bireylerin mRNA ekspresyon seviyeleri serum 25-OHD seviyelerine göre karşılaştırıldı. Hastaların serum 25-OHD seviyelerinin sağlıklı bireylerden düşük olduğu bulundu. PINK1 mRNA ekspresyon seviyesi hasta ve sağlıklı bireyler arasında anlamlı bir fark göstermezken, PARKIN mRNA ekspresyon seviyesinin Parkinson hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla yüksek olduğu bulundu. mRNA ekspresyon seviyeleri serum 25-OHD seviyesine göre karşılaştırıldığında, sağlıklı bireylerin herhangi bir alt grubu arasında PINK1 veya PARKIN mRNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak PH hastalarında, serum 25-OHD seviyesi 30 ng/ml'den yüksek olan hastaların PINK1 mRNA ekspresyon seviyesinin, serum 25-OHD seviyesi 20-30 ng/ml arasında olan hastaların ise PARKIN mRNA ekspresyon seviyesinin diğer alt gruplara kıyasla daha yüksek olduğu belirlendi. Sonuçlarımız yüksek vitamin D seviyelerinin, PH patolojisine katılan ana unsurlardan biri olarak kabul edilen mitokondri fonksiyon bozukluklarını belirli mitokondriyal kalite kontrol genlerinin ekspresyonunu artırarak kompanse etmeye çalışıyor olabileceğini ileri sürmektedir.

The association between mitochondrial quality control genes and vitamin D in Parkinson's Disease patients

Pelin Sordu¹, Duygu Gezen Ak¹, Erdiñ Dursun¹, Merve Alaylıoğlu¹, Büşra Şengül¹, Ebru Keskin¹, İrem Lütüfiye Atasoy¹, Gencer Genç², Esra Koçhan³, Zeynep Ece Kaya Güleç³, Hülya Apaydın³, Sibel Ertan⁴

¹*Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit, Istanbul, Turkey*

²*Şişli Etfal Training and Research Hospital, Department of Neurology, Istanbul, Turkey*

³*Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Neurology, Istanbul, Turkey*

⁴*Koc University Hospital, Department of Neurology, Istanbul, Turkey*

Mitochondrial dysfunctions are associated with neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease(AD) and Parkinson's disease(PD). Majority of the familial PD cases have recessive mutations in PINK1 or PARKIN genes, which are a part of the mitochondrial quality control mechanism. It was shown that vitamin D deficiency is associated with neurodegenerative disorders in many populations. In our study, we aimed to investigate whether or not vitamin D is effective on mitochondrial quality control mechanism in PD. In the study, blood samples of 101 PD patients and 44 healthy subjects without any neurodegenerative disease were used. Serum 25-OHD levels of the individuals were measured by CLIA. mRNA expression levels of PINK1 and PARKIN genes were detected by qRT-PCR after RNA isolation was done from collected blood samples. mRNA expression levels were compared according to serum 25-OHD levels in both subjects. Serum 25-OHD levels of PD patients were found to be lower than the healthy subjects. PINK1 mRNA expression level didn't differ between healthy subjects and PD patients, yet PARKIN mRNA expression level of PD patients was found to be higher compared to the healthy subjects. When mRNA expression levels were compared according to the serum 25-OHD levels, there were no significant difference in either PINK1 or PARKIN mRNA expression levels between any subgroups of healthy subjects. Yet in PD patients, PINK1 mRNA expression levels were higher in patients whose serum 25-OHD levels were higher than 30ng/ml and PARKIN mRNA expression levels were higher in patients whose serum 25-OHD levels were between 20 and 30 ng/ml compared to the other subgroups. Our results suggest that high vitamin D levels may try to compensate the mitochondrial dysfunction which is accepted as one of the major component participates in PD pathology, by increasing the expression of certain mitochondrial quality control genes.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 070 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

SH-SY5Y hücrelerinde endojen Aβ1-42 ve α-syn'nin mitokondrideki varlığının araştırılması

Zuhal Yurttaş, Duygu Gezen Ak, Merve Alaylıoğlu, Ebru Keskin, Erdiç Dursun

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Beyin Ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı

Mitokondri ve enerji metabolizmasının fonksiyon kaybı hemen hemen tüm nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilidir. Alzheimer Hastalığı(AH) patolojisine yol açan amiloid beta 1-42(Aβ1-42) ve Parkinson Hastalığının(PH) major proteini olan alfa-sinukleinin(α-syn) nörodejenerasyonda mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna yol açtığı bilinmektedir. Her iki proteinin de mitokondriye translokasyonları daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Mitokondri fonksiyon bozukluklarının her iki hastalığın da erken evrelerinde ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Bu durum AH'da Aβ1-42 plak oluşumunun saptanmasından önce mitokondride enerji metabolizmasının bozulduğu ile ilgili bulgularla desteklenmektedir. AH'da artan Aβ1-42 oligomerlerinin mitokondride, yaşlanma sürecinde birikmiş hasara neden olarak nöronal fonksiyon bozukluğunu tetiklediği bilinmektedir. PH dahil birçok sinükleopatide ise mitokondriyal hasarın görülmesi patolojik durumda α-syn'in mitokondriyal fonksiyonun kontrolünde rol oynayabileceği fikrini ortaya koymaktadır. Toksik dozlarda Aβ1-42 uygulaması yapılmış hücrelerin ve SNCA overekspresyonu yapılmış hücrelerin mitokondrialarında bazı morfolojik değişimler kaydedilmiştir. Patolojik koşullardaki görevleri yaygın olarak bilinen Aβ1-42 ve α-syn'nin özellikle mitokondrideki varlığı ve görevleri hakkındaki bilgiler oldukça sınırlıdır. Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızda SH-SY5Y hücrelerinin mitokondrialarında endojen α-syn ve Aβ1-42 varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmamızda nörona farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış SH-SY5Y hücrelerinde mitotracker ile canlı hücre boyaması yapıp ardından fikse edilen hücrelerde ayrı ayrı Aβ1-42 ve α-syn antikorları ile immün işaretleme yapılmıştır. Sonuçlarımız herhangi bir uygulama yapılmamış hücrelerde endojen Aβ1-42 ve α-syn proteinlerinin mitokondri ile kolokalize olduğunu göstermektedir. Bu durum bize normal koşullarda Aβ1-42 ve α-syn proteinlerinin mitokondride temel bir işleve sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Investigation of mitochondrial presence of endogenous Aβ1-42 and α-syn in SH-SY5Y cells

Zuhal Yurttaş, Duygu Gezen Ak, Merve Alaylıoğlu, Ebru Keskin, Erdiç Dursun

Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory

Mitochondrial dysfunction is associated with almost all neurodegenerative diseases. It is known that amyloid beta 1-42(Aβ1-42), which causes the pathology of Alzheimer's disease(AD) and alpha-sinuclein(α-syn), the major protein of Parkinson's disease(PD), cause mitochondrial dysfunction in neurodegeneration. Translocations of both proteins to mitochondria have been shown. It has been reported that mitochondrial disorder occurs in the early stages of PD and AD. This is supported by evidence that mitochondrial energy metabolism is impaired before the formation of Aβ1-42 plaques in AD. Increased Aβ1-42 oligomers in AD are known to induce accumulated damage in mitochondria in the aging process, triggering neuronal dysfunction. The presence of mitochondrial damage in many synucleopathies, including PD, suggests that α-syn may play a role in the control of mitochondrial function in pathological conditions. Some morphological changes were detected in mitochondria of cells treated with toxic doses of Aβ1-42 and overexpressed SNCA. Our knowledge about the presence and functions of Aβ1-42 and α-syn in mitochondria, is more limited than the pathological functions. Based on this information, we aimed to investigate the presence of endogenous α-syn and Aβ1-42 in mitochondria in SH-SY5Y cells. In this study, mitochondria was labelled within differentiated and undifferentiated SH-SY5Y cells with mitotracker then endogenous Aβ1-42 and α-syn immunofluorescence labeling was performed in fixed cells. Our results show that proteins are localized in mitochondria of the cells. These results suggest that under normal conditions, Aβ1-42 and α-syn proteins may have a basic function in mitochondria.



PS – 071 POSTER BİLDİRİ / MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ

Amiloid beta 1-42 peptidinin HEK hücrelerinde transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonları üzerine etkileri

Tugay Çamoğlu, Erdinç Dursun, Merve Alaylıoğlu, Ebru Keskin, Zuhal Yurttaş, Duygu Gezen Ak

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı

Daha önceki çalışmalarımıza ait sonuçlarımız, endojen amiloid beta 1-42 (A β 1-42) peptidinin farklı hücre tiplerinde sitoplazma, nükleus ve mitokondride lokalize olabildiğini, belirli koşullarda hücre içerisinde farklı subelüler alanlara göç edebildiğini göstermiştir. Ayrıca, A β 1-42'nin antibiyotik dozuna cevaben hücre içinde sitoplazmadan nükleusa doğru göç ettiği literatürde ilk kez tarafımızdan gösterilmiştir. Bizim ve başka araştırmacıların çalışma sonuçları A β 1-42'nin büyük ölçüde DNA'ya bağlanma kapasitesi olduğunu ve bir transkripsiyon faktörü (TF) gibi davranabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada, pek çok genin ekspresyonunu etkilediği bilinen Alzheimer hastalığının patolojik bileşenlerinden biri olan A β 1-42'nin transkripsiyon faktörlerinin (TF) ekspresyonlarını da etkileyip etkilemediğini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla çalışmamızda FpClass ve TRRUSTV2 veritabanları yardımı ile A β 1-42'nin etkileşime girebileceğini belirlediğimiz TF'lerden RELA, STAT1 ve ATF2'nin ekspresyonlarının HEK hücrelerinde A β 1-42 uygulamalarına cevaben nasıl değiştiği saptanmıştır. HEK hücrelerine 0,09 μ M (toksik olmayan) ve 10 μ M (toksik) A β 1-42 uygulamaları yapıldıktan 24, 48 ve 72 saat sonra RNA izolasyonu yapılmıştır. RELA, STAT1 ve ATF2 mRNA ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile belirlenmiştir. Sonuçlarımız RELA, STAT1 ve ATF2 ekspresyon seviyelerinin A β 1-42'nin dozuna ve uygulama zamanına bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. A β 1-42 tarafından tek bir TF'nin gen anlatımının değişmesi, o TF'nin ekspresyonunu düzenlediği pek çok genin de anlatımının dolaylı olarak A β 1-42 tarafından etkilenebileceğini göstermektedir. Bu da beyinde A β 1-42'nin neden bu kadar kapsamlı etkileri olduğunu açıklayabilmektedir.

The effects of amyloid beta 1-42 peptide on the expression of transcription factors in HEK cells

Tugay Çamoğlu, Erdinç Dursun, Merve Alaylıoğlu, Ebru Keskin, Zuhal Yurttaş, Duygu Gezen Ak

Istanbul University-Cerrahpasa Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory

Our previous results showed that endogenous amyloid beta 1-42 (A β 1-42) peptide is localized in cytoplasm, nucleus and mitochondria in different cell types and can migrate to different subcellular areas in certain conditions. Moreover, for the first time in the literature we showed that A β 1-42 migrates from cytoplasm to nucleus in response to antibiotic doses. Our and other investigator's results indicates that A β 1-42 have a considerably binding capacity to DNA and may act like a transcription factor. In this study whether A β 1-42, which is one of the pathological component of Alzheimer's disease and have effects on the expression of numerous genes, affects the expression of transcription factors or not. In this purpose, in the study we investigated how the expression levels of RELA, STAT1 and ATF2, the transcription factors which we determined A β 1-42 may interact with the help of FpClass ve TRRUSTV2 databases, is effected in response to A β 1-42 treatments. RNA isolations were done 24, 48 and 72 hours after 0,09 μ M (nontoxic) and 10 μ M (toxic) A β 1-42 treatments in HEK cells. RELA, STAT1 and ATF2 mRNA expression levels were detected by qRT-PCR. Our results showed that TF expressions we interested in may vary depending on A β 1-42's dose and time. Expression changes of single TF by A β 1-42 indicates that many of the gene's expression which is regulated by that TF would be effected indirectly. This can explain why A β 1-42 has extensive effects in the brain.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ

ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 091 POSTER BİLDİRİ / ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI

PKR kinaz inhibitörlerinin ER stres altında pankreas beta hücrelerinde insülin salınımına etkisi

Abdullah Yalçın, Umut Kerem Kolaç, Gülçin Şarkıcı

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tip 2 diyabet (T2D), organizmada glukoz homeostazisinin bozulmasıyla birlikte; yüksek kan glukoz seviyeleri ve insülin direnciyle karakterize edilen birçok makro ve mikro komplikasyona neden olan, prevalansı son yıllarda önemli derecede artmış kronik bir metabolik hastalıktır. Endoplazmik retikulum (ER) hücrede sentezlenen proteinlerin modifikasyonları, katlanması, lipid sentezi de dahil olmak üzere hücre içi Ca^{2+} dengelerinin düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir organeldir. Hücre, sentezlenen proteinlerin şaperonlar aracılığıyla ER tarafından katlanmasının kontrolünü sağlarken bazı durumlarda mekanizma bozulur ve proteinler katlanamamış durumda ER lümeninde birikmeye başlar. ER stresini adı verilen bu olay hücrede protein sentezinin durdurulması, protein katlanmasının artırılması gibi çözüm yollarının üretildiği katlanmamış protein yanıtı olarak (UPR) adlandırılan bir sürecin başlamasına neden olur. Son zamanlarda metabolik hastalıklar ve ER stres ilişkisinin ortaya koyulduğu çalışmalarda; diyabetin ileriki safhalarında pankreas beta hücrelerindeki dejenerasyon ile insülin salınımının durdurulması arasında sıkı bir bağlantı olduğunu gösterilmiştir. Protein Kinaz R (PKR) normal şartlarda patojen varlığında (virüs) çift iplikli RNA tarafından uyarılan bir protein olup immün yanıtta etkilidir. ER stresinde de aktive olan PKR kinazın, önkarkotik başlama faktörü 2-alfa alt birimini ($eIF2-\alpha$) fosforilleyerek genel protein sentezini durdurmasının yanında metabolik hastalıklarda görülen inflamasyon ve glukoz metabolizması üzerine olan etkileri son yıllarda gösterilmiştir. Bu çalışmada biz fare pankreas beta hücre hattı olan Beta TC-6 hücrelerinde ER stres indükleyicisi olarak kullanılan tunikamisin ile oluşturulmuş ER stres modelinde PKR inhibitörleri imoxin ve 2-aminopürinin ER stres belirteçleri ve insülin salınımına olan etkilerini araştırdık. Sonuç olarak PKR inhibitörleri ER stres belirteçlerinin ekspresyonunun baskılanmasına yardımcı olmuş ve hücre insülin sekresyonunda düzelmeyi sağlamıştır.

The effect of PKR kinase inhibitors on pancreatic beta cell insulin secretion under ER stress

Abdullah Yalçın, Umut Kerem Kolaç, Gülçin Şarkıcı

Aydın Adnan Menderes University Medical School Medical Biology Department

Type 2 diabetes mellitus (T2D) is a chronic metabolic disease, which is characterized by improper glucose homeostasis due to insulin resistance and a number of secondary micro and macro vascular complications. Endoplasmic reticulum (ER) is a central organelle in cell, where membrane bound and secreted proteins are synthesized and folded to their final confirmation by the help of chaperones. Besides, it is involved in synthesis of some lipid molecules and maintain proper Ca^{2+} ion balance in the cellular compartments. When the protein folding functions of ER are compromised, unfolded proteins start to accumulate inside the ER lumen, triggering an abnormal stress condition called ER stress. This stress condition, in turn, initiates a cellular response pathway named unfolded protein response (UPR), in order to halt protein translation and increase protein folding capacity of the ER. Recently, a close correlation between ER stress and metabolic disease has been reported indicating a close link between ER homeostasis and insulin resistance in addition to the pancreatic beta cell degeneration during the late stages of type 2 diabetes. Protein kinase R (PKR) is a cytoplasmic protein involved in cellular immune response against pathogens, which is activated by viral double stranded RNA. PKR is also activated under ER stress and in parallel to UPR response it phosphorylates eukaryotic initiation factor 2 alpha subunit ($eIF2-\alpha$) in order to halt cellular protein synthesis. Related to this action, PKR activation has been shown to correlate with the inflammatory response during metabolic diseases. In this study we aim to demonstrate the effect of PKR activation on ER stress response and insulin secretion from pancreatic Beta TC-6 cells upon tunicamycin induction by using imoxin and 2-aminopurine as inhibitors of PKR. Our findings indicate inhibition of PKR activation suppresses ER stress indicators and improve insulin secretion capacity of pancreatic cells.



PS – 090 POSTER BİLDİRİ / ORGANEL PATOLOJİSİ ve HASTALIKLARI

Hastalıklarda Golgi Aygıtının Etkileri ve Tedavi Yaklaşımları

Hilal Salcın¹, Burçin Kaymaz²

¹Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana bilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana bilim Dalı, İzmir

Golgi aygıtı, proteinlerin post-translasyonel modifikasyonlarını gerçekleştiren ve lipid aracılığıyla proteinlerin hedef bölgelere taşınımını sağlayan, sekretuar yolağın merkezi bir organelidir. Maddenin işlenmesinin ve taşınmasının yanı sıra, Golgi kompleksi, mitotik giriş, hücre iskelet organizasyonu, kalsiyum homeostazisi ve apoptozun düzenlenmesini sağlar. Aynı zamanda otofajiye de aracılık eder ve aksonal homeostaziyi korur. Golgi, ilgili genlerdeki mutasyonların bir sonucunda parçalanabilir veya enfeksiyöz ajanlar tarafından ele geçirilebilir. Bunun sonucunda nörodejeneratif hastalıklar ve kansere neden olabilir.

Golgi yapısal proteinleri Golgi çevresinde bir proteinli matris oluşturan genişletilmiş sarmal-bobin proteinlerdir. Bunlardan en önemlisi GRASP65'dir. Normal koşullarda GRASP65 defosforile bir şekilde bulunur. Yapısal proteinlerin fosforilasyonu Golgi'nin yapısal değişikliğine yol açarak çeşitli hastalıklara neden olur. Golgi Aygıtı'nın parçalanma gibi yapısal değişiklikleri, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), Alzheimer ve Creutzfeld - Jacob hastalıkları, spinocerebellar ataksi tip 2 dâhil, çeşitli nörodejeneratif hastalıkların erken klinik öncesi bir özelliğini temsil etmektedir. ALS'ye neden olan genlerin dejenere motor nöronlarındaki Golgi fragmentasyon mekanizmalarıyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Nörodejeneratif hastalıklarda genellikle Golgi fragmentasyonu sonucu ER-Golgi ile Golgi arasındaki veziküler plazma transferine engel olan patojenik mutant proteinler oluşmaktadır.

Hücre bütünlüğünün sağlanmasında önemli bir yeri olan Golgi aygıtı, hastalık tedavilerinde de büyük bir öneme sahiptir. Tedavi yöntemi olarak, hasarlı hücrelerde Golgi aygıtlarını parçalamayı hedeflemek, önemli bir strateji olarak karşımıza çıkmaktadır. Golgi yerleşik proteinlerini çeşitli bozuklukların tedavisi için hedef alan ilaçlar, klinik deneme aşamasına getirilmiştir. Bununla birlikte yaşanan temel zorluklar, hedef spesifitesi arttıkça ve hücre membranı bariyerini aşmaktır. Bu nedenle Golgi'yi hedeflemek için hücre penetran peptitler veya nanopartiküller gibi yeni ilaç verme stratejilerinin gelişmesine yan etkilerin en aza indirilmesiyle devam etmektedir.

Effects of Golgi Apparatus in Diseases and Treatment Approaches

Hilal Salcın¹, Burçin Kaymaz²

¹Ege University Institute of Health Sciences, Department of Basic Oncology, İzmir

²Department of Medical Biology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir

The Golgi apparatus is a central organelle of the secretory pathway, which performs post-translational modifications of proteins and transports proteins to target sites via lipid. Golgi's other tasks are to regulate mitotic entry, cell skeletal organization, calcium homeostasis and apoptosis. It also mediates autophagy and maintains axonal homeostasis. Golgi may be degraded as a result of mutations in the genes of interest or may be captured by infectious agents. This can cause neurodegenerative diseases and cancer.

The most important Golgi structural protein is GRASP65. Normally, GRASP65 is found in a dephosphorylated form. Phosphorylation of structural proteins leads to structural changes of Golgi and causes various diseases. Structural changes in the Golgi Device cause various neurodegenerative diseases, including Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS), Alzheimer's and Creutzfeld-Jacob's diseases, and spinocerebellar ataxia type 2. Genes causing ALS are thought to be related to Golgi fragmentation mechanisms in degenerated motor neurons. In neurodegenerative diseases, pathogenic mutant proteins are formed which prevent the vesicular plasma transfer between ER-Golgi and Golgi as a result of Golgi fragmentation.

The Golgi is also of great importance in disease treatments. As a treatment method, it is aimed to break down the Golgi devices in damaged cells. Drugs that target Golgi proteins for the treatment of various disorders are in the clinical trial stage. The main challenges are to overcome the cell membrane barrier and directly target Golgi. Therefore, the development of new drug delivery strategies such as cell penetrating peptides or nanoparticles continues with the minimization of side effects.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ EPIGENETİK



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 034 POSTER BİLDİRİ / EPİGENETİK

Larenks kanserinde *Proliferating Cell Nuclear Antigen* geninin ekspresyon artışının klinik önemi

Semra Demokan¹, Sena Şen¹, Can Doruk², Murat Ulusan², Nejat Dalay¹

¹*Istanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.*

²*Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.*

Amaç: Direk/indirekt etkililerle oluşan DNA hasarı, DNA tamir mekanizmasında meydana gelen genetik/epigenetik değişiklikler nedeniyle onarılmazsa kanser oluşumuna sebep olmaktadır. Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) geni, nükleusta bulunan DNA polimeraz-delta enziminin kofaktörünü kodlayarak ve DNA replikasyonu sırasında öncü ipliğin sentezini sağlayarak hücre proliferasyonunu devam ettirmektedir. Literatürde, meme, over, mesane, karaciğer, akciğer ve baş-boyun kanserlerinde PCNA geninin ekspresyon seviyelerinde artış bildirilmiştir. Çalışmamızda (I.U.BAP-ONAP-42152), Türk larenks kanserli hastalarda PCNA geninin ekspresyon durumlarının larenks karsinogenezindeki rolü incelendi.

Gereç-Yöntem: LC tanısı almış 50 hastaya ait tümör/eşlenik normal doku örnekleri ile 20 sağlıklı bireye ait normal mukoza örneklerinden RNA izolasyonu sonrası cDNA sentezi gerçekleştirildi. Ekspresyon seviyelerinin belirlenmesinde Kantitatif Gerçek Zamanlı-PCR (QRT-PCR) yöntemi kullanıldı. Ekspresyon seviyeleri Basic Relative Quantification programları ile analiz edildi. Elde edilen sonuçlar ile klinik parametreler SPSS Sıstatistik programı kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular: PCNA geninin ve referans genin ekspresyon seviyeleri, $2\Delta\Delta C_t$ değerleri kullanılarak kat değişimleri (Fold-Change) $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülü ile hesaplandı. Hastaların %40'ında (20/50) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla, ekspresyon seviyesinde artış gözlenirken; %16'sında (8/50) ekspresyon seviyesinde azalış tespit edildi. Hastaların tümör dokularına ait C_t değerlerinin ortalamaları ile sağlıklı bireylerin normal mukozalarına ait C_t değerlerinin ortalamaları ile kıyaslanarak fold-change değeri hesaplandı ve hastalarda 173 kat artma tespit edildi. %95 güven aralığında yapılan ANOVA (F-testi) testine göre PCNA geninin ekspresyon seviyesindeki artış ile larenksin supraglottis ($p=0,001$) ve subglottis ($p=0,017$) altgrupları ile evre III ($p=0,024$) ve evre IV ($p=0,001$) arasında anlamlılık tespit edildi.

Sonuç: PCNA geninin ekspresyon seviyesindeki artışın ileri evre ile ilişkili olduğu ve larenks karsinogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Clinical significance of increased expression of Proliferating Cell Nuclear Antigen gene in larynx cancer

Semra Demokan¹, Sena Şen¹, Can Doruk², Murat Ulusan², Nejat Dalay¹

¹*Istanbul University, Oncology Institute, Department of Basic Oncology, Istanbul University, Istanbul, Turkey.*

²*Department of Otorhinolaryngology, Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey.*

Objective: The Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) gene maintains cell proliferation by encoding the cofactor of the DNA polymerase-delta enzyme present in the nucleus and allowing synthesis of the precursor strand during DNA replication. In the literature, it has been reported the increased expression levels of PCNA gene in breast, ovarian, bladder, liver, lung and head-neck cancers. In our study (I.U.BAP-ONAP-42152), the role of the expression status of PCNA gene was investigated in Turkish larynx cancer (LC) patients.

Materials-Methods: The expression status of PCNA was analyzed in tumor and matched-normal tissue samples of 50 LC patients and normal mucosa of 20 healthy individuals using LightCycler 480 by the QRT-PCR method. The expression levels were analyzed by Basic Relative Quantification programs.

Results: PCNA and the reference gene expression status were analyzed by calculating the threshold C_t values as fold changes using the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. The increased expression levels of PCNA were observed in 40% (20/50) of tumor samples compared with matched-normal tissue, whereas the expression levels were decreased in 16% (8/50) of patients. The expression levels of PCNA gene were observed as increased 173-fold in tumor tissues according to normal mucosa. According to ANOVA (F-test) test within 95% confidence interval, statistical significances were found between the increased expression levels of PCNA gene and subgroups of larynx [supraglottic ($p=0,001$) and subglottic ($p=0,017$)], and advanced stages [stage III ($p=0,024$) and stage IV ($p=0,001$)].

Conclusion: We concluded that the increase in expression levels of PCNA gene may play a role in laryngeal carcinogenesis.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: İ.Ü.BAP-ÖNAP-42152.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ

İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 087 POSTER BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

Granülizin, Hashimoto tiroiditi patogenezi ile ilişkili değildir

Sevim Karakaş Çelik¹, Güneş Cakmak Genç¹, Murat Can², Tuğba Aktaş¹, Taner Bayraktaroğlu³, Ahmet Dursun¹

¹Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Zonguldak

²Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Zonguldak

³İç Hastalıkları, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Zonguldak

Amaç: Hashimoto tiroiditi (HT) otoimmün bir hastalık olup hipotiroidinin en sık görülen nedenidir. HT'li hastalarda tiroid bezinde görülen yaygın lenfosit infiltrasyonu ve vücudun kendi tiroid antijenlerine karşı intolerans gelişmesi, tiroid hücrelerinin harabiyetine ve tiroid fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır. Granülizin, insan sitotoksik T lenfositleri ve doğal öldürücü hücrelerin granüllerinde bulunan sitolitik bir antikimrobiyal peptiddir. CD8+ T lenfositlerin başlıca görevi granüllerindeki perforin ve granülizin maddelerini salgılayarak enfekte hücreleri apoptoza sürüklemektir. Granülizin çeşitli enfeksiyonlar, kanser, transplantasyon ve cilt problemleri gibi çok çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Ancak HT ile granülisin arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma yoktur. Çalışmamızın amacı, granülizin seviyelerinin ve *GNLY* gen polimorfizminin HT'ye yol açan hasarlı immün tepkiye katkıda bulunup bulunmadığını araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya akraba olmayan, HT tanısı konmuş 96 hasta ve 96 sağlıklı birey dahil edildi. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak *GNLY* rs10180391 gen polimorfizmi frekansları ve ELISA yöntemi kullanılarak serum granülizin düzeyleri belirlendi.

Bulgular: Hasta ve kontrol grupları arasında *GNLY* gen polimorfizmi genotip frekansı, alel frekans dağılımı ve serum granülizin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Sonuç: Sonuç olarak, serum granülizin düzeyi ve *GNLY* rs10180391 gen polimorfizmi HT hastalığının gelişiminde etkili görünmemektedir.

Lack of association between Granulysin and pathogenesis of Hashimoto thyroiditis

Sevim Karakaş Çelik¹, Güneş Cakmak Genç¹, Murat Can², Tuğba Aktaş¹, Taner Bayraktaroğlu³, Ahmet Dursun¹

¹Department of Genetics, Faculty of Medicine, Zonguldak Bulent Ecevit University, Zonguldak

²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Zonguldak Bulent Ecevit University, Zonguldak

³Department of Endocrinology and Metabolism, Faculty of Medicine, Zonguldak Bulent Ecevit University, Zonguldak

Objective: Hashimoto thyroiditis (HT) is an autoimmune disease and the most common cause of hypothyroidism. The widespread lymphocyte infiltration in the thyroid gland and intolerance of the body against its own thyroid antigens lead to destruction of thyroid cells and impaired thyroid function. Granulysin is a cytolytic antimicrobial peptide that found in the granules of human cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells. The primary task of CD8+ T lymphocytes is to induce apoptosis of the infected cells by secretion of perforin and granulysin substances in the granules. Granulysin has been associated with a wide range of diseases such as various infections, cancer, transplantation and skin problems. However, there is no study investigating the relationship between HT and granulysin. The aim of our study is to investigate whether granulysin levels and *GNLY* gene polymorphism contribute to the damaged immune response leading to HT.

Materials-Methods: 96 unrelated patients diagnosed with HT and 96 healthy individuals were included in our study. *GNLY* rs10180391 gene polymorphism frequencies were determined using PCR- RFLP method and serum levels of granulysin were determined using ELISA.

Results: There is no statistical significance was found between patient and control groups in terms of genotype frequencies and allele frequency distribution of *GNLY* gene polymorphism and serum levels of granulysin.

Conclusion: In conclusion serum levels of granulysin and the *GNLY* rs10180391 gene polymorphism do not appear to have a role in the development of HT disease.



PS – 087 POSTER BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

Histon Deasetilaz İnhibitörü Vorinostat'ın makrofajların hücre yüzey belirteçlerine olan etkisi

Samet Türel, Gülseren Bağcı, Vildan Caner

Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Denizli

Makrofajlar myeloid seriden köken alan immün sistem hücreleridir ve immün gözetimden sorumludurlar. Bu hücreler, epigenetik regülasyonla klasik olarak aktive makrofajlar (M1) ve alternative olarak aktive makrofajlar (M2) olmak üzere 2 altgruba polarize olurlar. Bu nedenle de kanser başta olmak üzere farklı hastalıkların tedavisinde epigenetik mekanizmaları hedefleyen ajanların kullanımı söz konusudur. Günümüzde kanser tedavisinde histon deasetilaz enzimini (HDAC) hedef alan histon deasetilaz inhibitörleri (HDACi) kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, bir HDACi olan Vorinostat'ın farklı fenotiplere polarize ettiğimiz RAW 264.7 fare makrofaj hücrelerinde hücre yüzey belirteçlerine olan etkileri flow sitometri yöntemi ile araştırıldı. M1 makrofajları için CD86, M2 makrofajları için ise CD206 ifadesinin yüksek olması fenotip özelliği olarak belirlendi. LPS ve IFN- γ uyarısı ile M1 fenotipine polarize edilen hücrelerde, Vorinostat uygulamasının hem CD86 hem de CD206 ifadesinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı görüldü. IL-4 uyarısı ile M2 fenotipine polarize edilen hücrelerde ise tek başına Vorinostat uygulanan hücrelerde CD206 seviyesinin değişmediği, ancak CD86 ifadesinin arttığı tespit edildi. İlginç bir şekilde, M2 fenotipindeki hücrelere Vorinostat ve LPS ile birlikte uygulandığında CD86 seviyesinin arttığı ancak CD206 seviyesinin ise dramatik şekilde azaldığı tespit edildi ve dolayısıyla M1 fenotipi benzeri hücre yüzey belirteçlerine sahip oldukları belirlendi.

Vorinostat'ın makrofajların farklı alt tiplerinde, en azından hücre yüzey belirteçlerini değiştirerek, farklı hücre sonuçlarına neden olabileceğini düşünmekteyiz. Detaylı mekanizmaların aydınlatılması için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

The effect of Vorinostat, an histone deacetylase inhibitor, on cell surface markers of macrophages

Samet Türel, Gülseren Bağcı, Vildan Caner

Pamukkale University, School of Medicine, Department of Medical Genetics, Denizli

Macrophages are immune system cells derived from the myeloid lineage and play an important role in immune surveillance. Epigenetic regulation plays a significant role in determining the polarization of the cells. The cells can be classified depending on their polarization to classically-activated macrophages (M1s) or alternatively-activated macrophages (M2s), respectively. Therefore, the agents targeting epigenetic mechanisms are used in the treatment of various diseases, especially cancer. To date, histone deacetylase inhibitors (HDACi) targeting histone deacetylase (HDAC) have been used for cancer therapy.

In this study, the effects of Vorinostat, an HDACi, on cell surface markers of RAW 264.7 mouse macrophages were investigated by flow cytometry. The high expression of CD86 for M1 macrophages and CD206 for M2 macrophages were accepted for phenotypic characterization. In cells polarized to M1 phenotype by LPS and IFN- γ stimulation, it was observed that Vorinostat administration did not cause a significant change in both CD86 and CD206 expression. In cells polarized to M2 phenotype by IL-4 stimulation, CD206 level did not change in Vorinostat-treated cells but CD86 expression increased. Interestingly, in cells polarized to M2 phenotype by Vorinostat and LPS, it was found that the expression of CD86 was increased while the expression of CD206 was dramatically decreased. Therefore, these cells had M1 phenotype-like cell surface markers. We believe that Vorinostat may cause different cellular outcomes in different subtypes of macrophages, at least by altering cell surface markers. Further studies are needed to elucidate the detailed mechanisms.



PS – 089 POSTER BİLDİRİ / İMMUNOBİYOLOJİ - İMMUNOGENETİK

Çocukluk çağında Periyodik Ateş Sendromları ile ilişkili gen imzasının belirlenmesi ve ileriye yönelik olasılıklar

Özge Cumaoğulları Eker¹, Yasemin Öztemur Islakoğlu², Gözde Yalçın³

¹Doğu Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi

²İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi

³Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

Ateş çocukluk çağında özellikle enfeksiyon sebepli en sık gözlenen şikayetlerdendir. Belli aralıklarla gözlenen ateşin sebebinin bulunamadığı durumlar periyodik ateş sendromları olarak sınıflandırılmaktadır. Tekrar eden bu inflamatuvar ataklar ile ilişkilendirilmiş kalıtsal veya kökeni bilinmeyen hastalıkların birçok türü (PFAPA, CAPS, FMF ve SJIA gibi) olmakla birlikte ortak noktası periyodik ateş semptomu gözlenmesidir. Teşhis ve tedavi, hasta yaşam kalitesinin artması, uzun dönem komplikasyonların önlenmesi ve kısa dönemde morbidite önlenmesi için biyobelirteçleri belirlenmesi gerekmektedir.

Çalışmamıza PFAPA, CAPS, FMF ve SJIA hastaları dahil edilmiştir. Bu otoinflamatuvar kökenli ve periyodik ateş gözlenen hastalıkların transkriptom verileri birlikte analiz edilerek literatüre farklı bir bakış açısı getirilmesi ve ülkemizde de gözlenen periyodik ateş vakaları için hızlı ve selektif aday gen imzası belirlenmesi amaçlanmıştır.

Halka açık bir veri tabanı GEO’da bulunan 3 çalışmanın verileri (GSE17732, GSE43553 ve GSE80060) ham olarak indirilmiştir. Ham verilerin BRB Array Tools kullanılarak yapılan analizi sonucunda tüm hastalar (CAPS, SJIA, PFAPA) ve spesifik olarak ateşli-atak dönemindeki hastalar (CAPS, FMF, PFAPA) ile sağlıklı bireyler kullanılmış ve sendrom tipi, atak dönemi temelli 6 ayrı karşılaştırma yapılmıştır. Bu karşılaştırmalar sonucunda elde edilen listeler ($p < 0,05$, FoldChange:2) Venny analiz aracı ile kesiştirilmiştir.

Buna göre, sırasıyla tüm ve atak dönemindeki hastalarda sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı olarak farklı ifade olan 9 ve 111 gen tespit edilmiştir. Bu genler incelendiğinde 6 tanesinin (ANXA3, CD177, KCNJ15, SOCS3, ALPL, SLC25A37) sendrom tipi ve atak döneminden bağımsız olarak arttığı dikkat çekmiştir. Karşılaştırmalar sonucunda bu genlerin en az 2.2 kat en fazla 105.18 kat artış göstermiştir.

Yolak analizlerinde hastalıktan bağımsız olarak Nötrofil ve $\alpha 9\beta 1$ integrin yüzey molekülleri, sitokin sinyalizasyonunda yer alan genler anlamlı olarak belirlenmiştir. Yaptığımız biyoinformatik analizler sonucunda belirlediğimiz ateşli durumdan bağımsız sendromu işaret eden bu 6 gen hızlı tanı için umut vaat etmektedir.

Determination of gene signature associated with Periodic Fever Syndromes in childhood and future prospect

Özge Cumaoğulları Eker¹, Yasemin Öztemur Islakoğlu², Gözde Yalçın³

¹Eastern Mediterranean University, Faculty of Medicine

²İzmir Biomedicine and Genome Center

³Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering

Fever is the common symptom in childhood, most frequently due to infection. In a periodic time with unknown cause recurrent fever is classified as a periodic fever syndrome. This inflamatuvar condition is observed in monogenic or multifactorial disease such as PFAPA, CAPS, FMF ve SJIA. Early detection is very important for patient life quality, short term morbidity and prevention long term complication. Therefore it is important to find new biomarkers for diagnosis and therapy.

PFAPA, CAPS, FMF and SJIA patients were included into our study. It is objected to bring a different perspective to the literature by analyze auto-inflamatuvar origin and common periodic fever condition diseases. In this study we aimed to find out quick and selective candidate gene signatures for periodic fever by using periodic fever disease patient’s transcriptome data. Three different studies raw data were downloaded from open access database GEO (GSE17732, GSE43553 ve GSE80060). According to raw data analysis of total patients (CAPS, SJIA, PFAPA), during flare patients (CAPS, FMF, PFAPA) versus healthy control by the basis of disease and period, 6 different comparison is performed by BRB Array Tool. As a results of these gene lists ($p < 0,05$, Fold Change:2) were intersected by Venny tool.

With regards to these results, statistically significant differentially expressed 9 and 113 genes were determined in all patients and during flare patient respectively in comparison with healthy controls. 6 genes (ANXA3, CD177, KCNJ15, SOCS3, ALPL, SLC25A37) increased by syndrome and flare independently. These genes are min. 2.2 and max 105.18 times increased.

Neutrophil and $\alpha 9\beta 1$ integrin surface, cytokines signalization molecules genes are enriched in our data independently from diseases. According to our bioinformatic analysis results, we determined 6 quick and selective candidate gene within syndrome type and period independently.



**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
KONGRESİ** ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 *Ekim* 2019 La Blanche Island Otel **BODRUM**



POSTER BİLDİRİ DİĞER



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 097 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Akalazya hastalarında balon dilatasyonu öncesi ve sonrasında özofagus epitelinin elektrofizyolojik ve permeabilite özelliklerinin incelenmesi

Sezgi Kıpçak¹, Pelin Ergün², Nur Selvi Günel¹, Serhat Bor³

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı

Amaç: Akalazya, 100.000'de yaklaşık 1.6 vaka insidansı ile nadir görülen bir hastalıktır. Hastalığın etiyolojisinde epitel doku özellikleri henüz araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, sağlıklı kontroller ve gastroözofageal reflü (GÖRH) fenotipleri ile karşılaştırılarak, balon dilatasyonu öncesi ve sonrasında akalazya tanısı alan hastalarda özofagus epitelinin elektrofizyolojik ve permeabilite özelliklerini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya endoskopisi, özofagus grafisi ve yüksek rezolüsyonlu motilite (HRM) testleri akalazya ile uyumlu olan 27 hasta dahil edilmiştir. 23 sağlıklı gönüllü ve 60 eroziv reflü hastasının (ERD A/B: 48, ERD C/D:12) verileri ise çalışmamızın kontrol grubunu oluşturmaktadır. 27 akalazya hastasının tedavi öncesindeki, bu hastalardan 14 tanesinin ise hem tedavi öncesi hem de balon dilatasyonundan 2-3 ay sonra yapılan özofageal elektrofizyolojik ve permeabilite incelemeleri tamamlanmıştır. Özofagus dokularının elektrofizyolojik özellikleri mini ussing çember sistemiyle (TEER), permeabilite özellikleri ise spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

Bulgular: Akalazya hastalarının tedavi öncesi özofagus epitellerinin doku dirençleri ve permeabiliteleri sağlıklı gönüllü grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak aynı hasta grubu eroziv reflü grubuyla karşılaştırıldığında akalazya hastalarının doku dirençlerinin anlamlı şekilde yüksek olduğu ve bununla paralel olarak özofagus epitel permeabilitelerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir (Tablo).

Sonuç: Akalazya hastalarında gastrik reflü nadir görülür, ancak özofagustaki yiyeceklerin mekanik travması ve uzun süreli özofagusta kalması epitel üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabilir. Beklenilenin aksine, hastaların tedavi öncesi özofagus epitelyal direnci ve doku geçirgenliği sağlıklı kontroller ile benzerdi. Akalazya hastalarında tedavi sonrasında GÖRH görülme sıklığı yüksektir. Buna rağmen tedavi sonrasındaki epiyelyal direnç ve permeabilite özellikleri tedavi öncesiyle karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik saptanamadı. Bu sonuçlar ışığında akalazya hastalarının özofageal epitelinde adaptif bir sitoprotektif mekanizmanın gelişebileceğini öngörmekteyiz.

Investigation of electrophysiological and permeability properties of esophageal epithelium in patients with achalasia before and after balloon dilatation

Sezgi Kıpçak¹, Pelin Ergün², Nur Selvi Günel¹, Serhat Bor³

¹Ege University School of Medicine, Department of Medical Biology

²Ege University School of Medicine, Department of Medical Biochemistry

³Ege University School of Medicine, Department of Gastroenterology

Objective: Achalasia is a rare disorder with an incidence of approximately 1.6 cases per 100,000. The etiology of the disease especially changes at the epithelial permeability is not known. The aim of this study was to investigate the electrophysiological and permeability characteristics of esophageal epithelium in patients with a diagnosis of achalasia before and after balloon dilatation compared with healthy controls and gastroesophageal reflux phenotypes.

Materials-Methods: 27 patients diagnosed with upper gastrointestinal endoscopy with distal esophageal biopsies, high resolution esophageal manometry (HRM). 23 healthy volunteers and 60 erosive gastroesophageal reflux patients (ERD A / B: 48, ERD C / D: 12) were also included. Esophageal electrophysiology and permeability measurements were performed before the treatment of 27 achalasia patients. 14 patients were also evaluated 2-3 months after the balloon dilatation. The electrophysiological properties of the esophageal tissues were examined with mini ussing chamber system (TEER) and the permeability properties were examined spectrophotometrically.

Results: TEER and permeability of esophageal epithelium of Achalasia patients were not significantly different compared to the healthy volunteer group. However, when compared to the ERD group, the tissue resistance of achalasia patients were significantly higher and the permeability of the esophageal epithelium was significantly lower (Table).

Conclusion: Patients with achalasia have less gastric reflux however the mechanical trauma and long-term stasis of food inside the esophagus might have a noxious effect on the epithelium. Different than the expectations, pre-treatment findings of esophageal epithelial resistance and tissue permeability were similar with HC. GERD is not uncommon in Achalasia patients following treatments. In spite of that, no significant change was determined when the patients' esophageal epithelial resistance and permeability were compared before and after treatment with balloon dilatation. Based on these results, we assume that, an adaptive cytoprotective mechanism might develop in the esophageal epithelium of achalasia patients.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 097 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

tablo
table

	Doku direnci (ohm) (ORT±ss)	Permeabilite (pmol) (ORT±ss)
Sağlıklı gönüllü	166,8 ± 47,2 ^{§§§}	36,9±13,8 ^{§§}
Akalazya (tx öncesi)	188,3± 55,7	33,6±15
Akalazya (tx sonrası)	216± 80	22,2±9,1
Hafif Eroziv Reflü (ERD A/B)	133,2 ± 34,4 * ^{§§}	49,6±28,4 ** [§]
Ağır Eroziv Reflü (ERD C/D)	112,1 ± 38,6* [§]	60,1±40,5*** ^{§§§}

*p<0,001 vs Akalazya (tx. öncesi), ** p<0,005 vs Akalazya (tx. öncesi), *** p<0, 05 vs Akalazya (tx. öncesi)

[§] p<0,001 vs Akalazya (tx. sonrası), ^{§§} p<0,005 vs Akalazya (tx. sonrası), ^{§§§} p<0, 05 vs Akalazya (tx. sonrası)



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 093 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Calretikulin Tip 1 ve Tip 2 Mutasyonlarının Kronik Miyeloproliferatif Hastalık Patogenezi Üzerine Etkilerinin Klinik İle İlişkilendirilerek Araştırılması

İlayda Alçitepe¹, Miray Yaman², Duygu Aygüneş¹, İlknur Karatekin¹, Güray Saydam³, Burçin Tezcanlı Kaymaz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

²Şırnak Silopi Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Şırnak

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İzmir

Amaç: Kronik miyeloproliferatif hastalıklar(KMPH), hücresel proliferasyonu ile, hematopoetik hücrelerin bir/daha fazlasının, genellikle farklılaşma ve olgunlaşma geçirdiği klonal hematopoetik bozukluklardır. Ph(-) KMPH grubunda, en yaygın olanlar; polistemia vera(PV), esansiyel trombositemi(ET) ve primer miyelo-fibrozi(PMF)'dur. KMPH hastalarında, CALR(Calreticulin) mutasyonları tanımlanmıştır. Bu çalışmada Ph(-) KMPH hastalarında CALR mutasyonlarının belirlenmesi ve CALR mutasyon varlığının hastaların klinik bulguları üzerine etkileri araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya 35 ET, 1 PMF, 4 POST-PV, 4 POST-ET MF ve 32 PV olmak üzere toplam 76 Ph(-) KMPH vakaları dâhil edilmiştir. KMPH tanılı hastaların venöz kandan izole edilmiş DNA'ları kullanılarak, DNA dizi analizi yöntemiyle, CALR mutasyonları çalışılmıştır.

Bulgular: PMF tanılı olgularda retikülin lif artışı daha yüksek bulunmuş olup, istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Hastalık evresi ile korele olan splenomegali, PMF ve PV olgularında daha yüksek saptanmış olup, olguların %19,7'sinde başta MI, SVO, Budd, Chiari ve DVT olmak üzere tromboembolik olay saptanmıştır. Sağkalım açısından gruplar arası anlamlı fark saptanmamıştır. JAK2 mutasyonu değerlendirilen 45 olguda ET'de %20, PV'de %3, ve PMF'de %33,3 JAK2V617F mutasyonu olduğu görülmüştür. CALR tip 1 ve CALR tip 2 mutasyonu açısından değerlendirilen 76 olguda mutasyon saptanmamıştır.

Sonuç: JAK 2(-) ET ve PMF hastalarda, "tip 1 ve tip 2 CALR mutasyonu" saptanmamıştır. Bu iki mutasyon arasında, literatürde tip1 CALR mutasyonunun popülasyondaki oranı %45-50 iken tip2'nin %32-41'dir. Morbidite ve mortaliteyi azaltmak amacıyla yeni tedavi hedeflerine yönelik bu konudaki çalışmalar giderek artmaktadır. Hastalığın patogenezinin aydınlatılması, klinik ve hayatta kalım ile ilişkilendirilmesini sağladığı gibi hedefe yönelik tedaviler açısından yeni çalışmaların da önünü açacaktır.

Investigation Associated with the Clinic the Effects of Calreticulin Type 1 and Type 2 Mutations on the Pathogenesis of Chronic Myeloproliferative

İlayda Alçitepe¹, Miray Yaman², Duygu Aygüneş¹, İlknur Karatekin¹, Güray Saydam³, Burçin Tezcanlı Kaymaz¹

¹Department of Medical Biology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir, Turkey

²Department of Internal Medicine, Silopi State Hospital, Sırnak, Turkey

³Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

Objective: Chronic myeloproliferative diseases(CMPD) are clonal hematopoietic disorders in which one/more of the hematopoietic cells undergo proliferation and maturation, usually by cellular proliferation. In the Ph(-) CMPH group, the most common are; polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). In CMPH patients, CALR (Calreticulin) mutations have been identified. In this study, determination of CALR mutations in Ph(-) CMPH patients and effects of presence of CALR mutation on patients' clinical findings were investigated.

Materials-Methods: 35 ET, 1 PMF, 32 PV, 4 Post-PV MF and 4 Post-ET MF that a total of 76 Philadelphia (-) CMPD patients were included to the study. CALR mutations were studied by DNA sequencing method using DNAs isolated from venous blood of patients with CMPD.

Results: Reticulin fibers increase in the diagnosis of FMF patients xi was higher and was statistically significant. Splenomegaly, which is correlated with stage of the disease has been detected higher in the PMF and PV cases. (p=0,001) In 19.7% of cases, thromboembolic events, including particularly myocardial infarction, cerebrovascular disease, Budd-Chiari and deep vein thrombosis was detected, but statistical differences were not found between groups. JAK2V617F mutation was seen in JAK2 mutation has been evaluated in 45 patients with 20% ET, 34.4% PV and 33.3% PMF. The mutation was not found in 76 cases evaluated in terms of CALR type1 and CALR type2 mutations.

Conclusion: Type1 and type2 CALR mutations were not detected in JAK 2(-) ET and PMF patients. Between these two mutations, the rate of type1 CALR mutation in the population is 45-50%, whereas type2 is 32-41%. Studies on new treatment targets are increasing in order to reduce morbidity and mortality. Clarifying the pathogenesis of the disease will be associated with clinical and survival, and will pave the way for new studies in terms of targeted therapies.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 094 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Amniyosentez ile prenatal tanı konulan 8475 olguda karyotip analizi sonuçları

Ayfer Pazarbaşı, Davut Alptekin, Nermin Seda Ilgaz, İnayet Nur Uslu, Gamze Cömertpay, Gülsevinç Ay, Sabriye Kocatürk Sel, Nesrin Çetinel, Eylül Akbal Işık, Gülşah Evyapan

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 01790, Balcalı, Sarıçam-ADANA

Amaç: Amniyosentez, toplumda genetik hastalıkların sıklığının azaltılması ve genetik hasarlı çocukların doğumunun engellenmesi bakımından oldukça önemli tanısal bir işlemdir.

Gereç-Yöntem: Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik laboratuvarımızda Ocak 2000-Ağustos 2019 tarihleri arasında kadın hastalıkları polikliniği tarafından gönderilen ve standart yöntemlerle karyotip analizi yapılmış 8475 olgunun verileri analiz edildi.

Bulgular: Toplam 8475 amniyosentez olgusunun verileri analiz edildi. Kromozom düzensizliği anne yaşı 35 ve üzeri grupta en yüksek bulunurken, üçlü tarama testi riski ile gelen grup bunu izledi. 611 fetusta çeşitli kromozomal anomaliler (%7.2) saptandı. Anormal karyotiplerin %54.66'sı (334 olgu) sayısal ve %43.2'si (264 olgu) yapısal olarak bulundu. 13 olguda hem sayısal hem de yapısal anomaliler gözlemlendi (%2.12). Sayısal anomalilerin %49.7'si trizomi 21, %17.66'sı trizomi 18, %9.58'i monozomi X, %6.88'i trizomi 13, %4.79'u triploidi, %3.29'u Klinefelter sendromu, %1.19'i trizomi X, %0.89'u XYY sendromu vb. şeklinde bulundu. En sık bulunan yapısal anomaliler ise; 46,XX/XY, inv(9)(p11;q12)/(p11;q13) (%28.38), 46,XX/XY, 1qh(+) (%11.74), 46,XY, Yqh(-) (%7.57), 46,XX/XY, 16qh(+) (%7.19), 46,XX/XY, 9qh(+) (%4.54) ve 46,XY, Yqh(+) (%4.16) olarak bulundu. Bunların yanında dengeli, dengesiz translokasyonlar, delesyonlar ve duplikasyonlar da gözlemlendi.

Sonuç: Literatür ve sonuçlarımızı göre ileri maternal yaş, fetal kromozomal anomalilerin temel sebebidir. Fetal kromozomal anormali oranı % 7.2 olarak bulunmuştur. Bu oran prenatal tanının önemini ve gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Results of karyotype analysis of 8475 pregnancies in prenataly identified cases with amniocentesis from south of Turkey

Ayfer Pazarbaşı, Davut Alptekin, Nermin Seda Ilgaz, İnayet Nur Uslu, Gamze Cömertpay, Gülsevinç Ay, Sabriye Kocatürk Sel, Nesrin Çetinel, Eylül Akbal Işık, Gülşah Evyapan

Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Cukurova University, Balcali, Adana, Turkey

Objective: Amniocentesis is a very crucial diagnostic procedure for preventing the birth of genetically defective fetuses in order to decrease the prevalence of genetic diseases in populations.

Materials-Methods: A retrospective review of our amniocentesis database for the period from January 2000 to August 2019 was carried out. The karyotyping of 8475 fetuses was carried out in Department of Medical Biology from the samples of amniotic fluids which were sent from Department of Gynecology and Obstetrics of Balcali Hospital. A standart nomenclature has been developed to describe each of types of abnormality found in human chromosomes.

Results: A total of 8475 amniocentesis specimens were processed during the study period. 611 fetuses (7.2%) had various chromosomal abnormalities. 54.66% of abnormal karyotypes (334 cases) were numerical and 43.2% (264 cases) were structural. Both numerical and structural chromosomal aberrations were observed in 13 cases (2.12%). The ratios were as: trisomy 21 (49.7%), trisomy 18 (17.66%), monosomy X (9.58%), trisomy 13 (6.88%), Triploidy (4.79%), Klinefelter Syndrome (3.29%), Trisomy X (1.19%), XYY Syndrome (0.89%), and the others in all numerical abnormalities. The frequent structural abnormalities were as: 46,XX/XY, inv(9)(p11;q12)/(p11;q13)(28.78 %), 46,XX/XY, 1qh(+)(11.74%), 46,XY, Yqh(-)(7.57%), 46,XX/XY, 16qh(+)(7.19%), 46,XX/XY, 9qh(+)(4.54%) and 46,XY, Yqh(+)(4.16%). Balanced and unbalanced translocations, deletions and duplications were also found in less ratio.

Conclusion: According to the literature and our results, advanced maternal age is the main cause of fetal chromosomal abnormalities. Fetal chromosomal abnormality ratio that we found was 7.2%. This ratio emphasize the importance of prenatal diagnosis.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 095 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

2.45 GHz Elektromanyetik radyasyon uygulanan HEK293 hücrelerinde çinkonun oksidatif stres ve apoptoz üzerine etkisi

Nural Pastacı Özsoğacı¹, Dilek Düzgün Ergün², Matem Tunçdemir³, Derviş Özçelik¹

¹Biyofizik Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye

²Biyofizik Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye

Amaç: Elektromanyetik radyasyonun insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir (1,2). Çalışmamızda insan embriyonik hücrelerine (HEK293) uygulanan 2.45 GHz elektromanyetik radyasyon (EMR) ile indüklenmiş oksidatif stres ve apoptoz üzerine çinkonun (Zn) koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda kontrol, 50 µM Zn+EMR ve 100 µM Zn+EMR olmak üzere dört grup oluşturuldu. Elektromanyetik alan uygulanan gruplar 1 saat süre ile 2.45 GHz EMR'a maruz bırakıldı. Çinko uygulanan gruplar ise EMR maruziyeti öncesinde farklı dozlarda Zn içeren medyumlar ile 48 saat inkübe edildi. Oksidatif stres parametreleri spektrofotometrik olarak; bcl-2 ve kaspaz-3 aktiviteleri immünositokimyasal olarak; apoptoz ise TUNEL yöntemi ile değerlendirildi.

Bulgular: EMR uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla malondialdehit (MDA) seviyesinde yükselme, süperoksit dismutaz seviyesinde ise azalma tespit edildi. Ayrıca aynı gruplar arasında apoptotik hücre ve kaspaz-3 immunopozitif hücre sayısında artış, bcl-2 immunopozitif hücre sayısında azalma saptandı. EMR öncesinde Zn uygulanan gruplar ile sadece EMR uygulanan grup kıyaslandığında MDA seviyesinde azalma, SOD seviyesinde artma tespit edildi. Apoptotik hücre ve kaspaz-3 immunopozitif hücre sayısında azalma, bcl-2 immunopozitif hücre sayısında artış gözlemlendi.

Sonuç: Bulgularımız EMR'nin HEK293 hücrelerinde oksidatif stres ve apoptotik aktivasyona neden olduğunu göstermektedir. Çinkonun; SOD aktivitesini ve bcl-2 ekspresyonunu artırarak, lipid peroksidasyonunu ve kaspaz-3 ekspresyonunu azaltarak sağlıklı hücrelerde Elektromanyetik Radyasyon'un oluşturduğu zararlı etkiler üzerine koruyucu rolünün olabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar:

- 1.Dasdag S, Akdag MZ ve ark. Effects of 2.4 GHz radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi equipment on microRNA expression in brain tissue. Int J Radiat Biol. 2015 Jul;91(7):555-61
- 2.Çetin H, Nazıroğlu M ve ark. Liver antioxidant stores protect the brain from electromagnetic radiation (900 and 1800 MHz)-induced oxidative stress in rats during pregnancy and the development of offspring. J Matern Fetal Neonatal Med. 2014 Dec;27(18):1915-21.

Protective effects of zinc on 2.45 GHz electromagnetic radiation-induced oxidative stress and apoptosis in HEK293 cells

Nural Pastacı Özsoğacı¹, Dilek Düzgün Ergün², Matem Tunçdemir³, Derviş Özçelik¹

¹Biophysics Department, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

²Biophysics Department, Faculty of Medicine, Istanbul Aydın University, Istanbul, Turkey

³Medical Biology Department, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul, Turkey

Objective: Several epidemiological studies have shown that exposure to electromagnetic radiation (EMR) can be harmful to human health (1,2). The purpose of this study was to examine oxidative parameters and apoptosis induced by EMR in human kidney embryonic cells (HEK293) and to investigate whether zinc (Zn) has protective effect on EMR-induced apoptosis in HEK293 cells.

Materials-Methods: Four main groups were created as control, EMR, 50 µM Zn+EMR, and 100 µM Zn+EMR. EMR groups were exposed to 2.45 GHz EMR for 1 h. In Zn groups, cells were incubated with different concentrations of Zn for 48 h before EMR exposure. Oxidative stress parameters were determined by spectrophotometric method; bcl-2 and caspase-3 were assessed immunohistochemically and TUNEL method was performed for apoptotic activity.

Results: EMR group had higher malondialdehyde (MDA) level and lower superoxide dismutase (SOD) activity compared with control group. In Zn-applied groups, MDA was decreased and SOD activity was increased compared with EMR group. The number of the apoptotic cells and caspase-3 immunopositive cells at EMR group was increased significantly compared with the control group, whereas bcl-2 was decreased. Besides, Zn-treated groups showed a significant reduction in the number of apoptotic cells and caspase-3 from that of EMR group, whereas there was an increase in bcl-2 immunopositivity.

Conclusion: Our findings show that EMR caused oxidative stress and apoptotic activation in HEK293 cells. Zn seems to have protective effects on the EMR by increasing SOD activity and bcl-2 immunopositivity, decreasing lipid peroxidation and caspas-3 immunopositivity.

References:

- 1.Dasdag S, Akdag MZ et al. Effects of 2.4 GHz radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi equipment on microRNA expression in brain tissue. Int.J.Radiat.Biol.2015;91(7):555-61.
- 2.Çetin H, Nazıroğlu M et al. Liver antioxidant stores protect the brain from electromagnetic radiation (900 and 1800 MHz)-induced oxidative stress in rats during pregnancy and the development of offspring. J.Matern.Fetal Neonatal Med.2014;27(18):1915-21.



PS – 096 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Hücre kültürü psoriasis modelinde keratinosit miRNA'larının hastalığın başlangıç evresinde araştırılması

Buket Er Urgancı, İbrahim Açıkbaş

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli

Psoriasis T hücre aracılı keratinosit hiperproliferasyonu ve keskin sınırlı, eritemli plak veya papüller üzerinde yerleşmiş, parlak sedefi-beyaz skuamalarla karakterize kronik, multifaktöryel inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Psoriasis patogenezinde miRNA'lar keratinosit farklılaşması, proliferasyonu, inflamasyon, anjiyogenez de görev almalarının yanı sıra regülatör T hücrelerinin regülasyonu ve miRISC kompleksi üzerinden mRNA ve miRNA biyogenezinde görev almaktadır.

Çalışmamızda, psoriasis patogenezinde keratinosit hücre hatlarında zamana bağlı miRNA profilendirilmesini yaparak patogenezin başlangıç-tetiklenme aşamasındaki miRNA ekspresyon değişimlerini bulmayı amaçladık. HaCaT keratinosit hücre hattı 1,2,4,8,12,24,48 ve 72 saat 200 ng/ml LPS ile muamele edildi ve ELISA ile IL-1 β , IL-17, TNF- α ve LL-37 miktarları tayin edildi. Bu hücrelerden keratinosit spesifik miR-203 ekspresyonu qRT-PCR ile teyit edildi. ELISA sonucu ve miR203 ekspresyon sonucuna göre 1,5 ve 8. saatler seçilerek miRNA'lar arraye gönderildi, profilendirildi, listelendi ve ekspresyonu değişen miRNAların psoriasis oluşumundaki rolleri belirlendi.

Ekspresyonu değişen miRNA'ların ekstrasellüler matriks reseptör yolağı, Hippo sinyal yolağı, yağ asidi metabolizması, TGF- β sinyal yolağı ve kök hücrelerin pluripotensisini düzenleyen sinyal yolakları ile ilişkili olduğu KEGG yolak analizi ile saptandı. Ayrıca psoriasis patogenezinde immün yanıt, keratinosit proliferasyonu ve farklılaşması, apoptoz inhibisyonu ve ROS oluşumunda görev alan miR-128-3p, miR-597-5p, miR-30c-1-3p, miR-769-5p, miR-486-3p, 1226-5p, miR-574-5p, miR-22-3p, miR-941, miR-301a-3p, miR-148b-5p, miR-146a-5p, miR-148a-3p, miR-148b-3p, miR-221, miR-181c-5p ve miR-224'ün bu saatlerde ekspresyonlarının anlamlı olarak değiştiği görüldü.

Bu bilgiler ışığında psoriasis hastalığını başlangıç aşamasındaki değişikliklerin bir kısmı aydınlatılmış oldu. Başlangıç aşamasının tam olarak ortaya konması için 8. saatten sonraki sürelerde de hücrel ve miRNA analizlerinin devam ettirilmesinin faydalı olacağını düşünmekteyiz.

*Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2016SABE007).

Investigation of keratinocyte miRNA's in the initial stage of the disease at psoriasis cell culture model

Buket Er Urgancı, İbrahim Açıkbaş

Pamukkale University Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Denizli

Psoriasis is a chronic, multifactorial inflammatory skin disease characterized by T cell-mediated keratinocyte hyperproliferation and shiny, marginal plaques or papules with bright, pearlescent white scales. In the pathogenesis of psoriasis, miRNAs are involved in keratinocyte differentiation, proliferation, inflammation, angiogenesis, as well as regulation of regulatory T cells and mRNA and miRNA biogenesis via miRISC complex.

In our study, we aimed to find miRNA expression changes in the initiation-triggering stage of pathogenesis by profiling miRNAs in keratinocyte cell lines at time-dependent manner.

The HaCaT keratinocyte cell line was treated with 200 ng/ml LPS for 1,2,4,8,12,24,48 and 72 hours and IL-1 β , IL-17, TNF- α and LL-37 secretion quantified by ELISA. Expression of keratinocyte-specific miR-203 from these cells was confirmed by qRT-PCR. According to the ELISA and miR203 expression results, 1,5th and 8th hours were selected for array. miRNAs were isolated from LPS stimulated cell lines and arrayed by private company and array outputs were analysed. The roles of altered expression of the m/miRNAs in the pathogenesis of psoriasis were figured out.

Expression-altered miRNAs have been associated with extracellular matrix receptor pathway, Hippo signaling pathway, fatty acid metabolism, TGF- β signaling pathway, and signaling pathways regulating pluripotency of stem cells by KEGG pathway analysis. In addition, the miRNAs whose expression significantly changed at the time points, miR-128-3p, miR-597-5p, miR-30c-1-3p, miR-769-5p, miR-486-3p, miR-148a-3p, miR-148b-3p, miR-148b-5p, miR-146a-5p, miR-221, miR-181c-5p and miR-224, are involved in the immune response, keratinocyte proliferation and differentiation, apoptosis inhibition and ROS formation.

According to these results, some of the changes in the initiation stage of psoriasis disease have been clarified. We think it would be useful to continue cellular and miRNA analyses after the 8th hour to ensure that the baseline stage is fully established.

*This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through project number 2016SABE007



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 099 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Branchiootorenal sendromu (BOR); EYA1, SIX1, SIX5 genleri mutasyon analizi ve ailesel segregasyon

Yasemin Soysal¹, Serhat Ekemen², Hasan Hüseyin Kazan³, Sefa Kızıldağ⁴, Mehmet Ali Ergün⁵

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim dalı, İzmir

²Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi, Eğitim Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD. Karabük

³Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

⁵Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

Amaç: Branchiootorenal sendromu

(BOR) veya branchio-otic (BO) sendromu sendromik işitme kayıplarının bir formudur. İnsidansı 1:40,000'dir. Bazı BOR hastalarında kromozom 8q'da EYA1 geni mutasyonları hastalıktan sorumludur. EYA1'in yanı sıra, SIX1 ve SIX5 gen mutasyonları, kromozom mikrodelsiyonları ve mikrodüplikasyonlar rapor edilmiştir.

Olgu: Biz çalışmamızda üç nesilde dört etkilenmiş bireyin olduğu bir aile bildirdik.

Çalışmamızda, EYA1 geninin 21 ekzon bölgesi, SIX1 geninin 3 ve SIX5 geninin 7 ekzon bölgesi proband ve iki oğlunda Sanger Sekans analizine tabii tutuldu.

Sonuç: EYA1 geninin ekzon 12'de heterozigot mutasyon (NM_000503.6(EYA1):c.1140+4_1140+7delAGTT) taşıdığı, bunun da "uncertain significance" özellikte olduğu bulundu. Bu varyant 4 baz çiftlik bir delesiyonu (8q13.3 (rs1554605968)). SIX5 geni 3. ekzonda rs2014377ekzonik polimorfizmi bulundu. SIX1 geni 1 ve 2. ekzonları normaldi. EYA1 genindeki sekans değişikliği proteinde doğrudan bir amino asit değişikliği yapmamakta fakat intronun korunmuş splice bölgesinde bir nükleotidi etkilemektedir. Bu varyant bir ailede işitme kaybı, preauricular pitler ile ilişkilendirilmiştir. Çalıştığımız aile bu veriye göre bildirilen ikinci vakadır. Sonuç olarak, ailede bildirilen "uncertain significant" mutasyonun hastalığın sendromik belirtilerinin segregasyon göstermesi göz önüne alındığında BOR sendromunun klinik özelliklerine sebep oluyor olabilir.

Branchiootorenal syndrome (BOR), mutational analysis of EYA1, SIX1 and SIX5 genes and familial segregation

Yasemin Soysal¹, Serhat Ekemen², Hasan Hüseyin Kazan³, Sefa Kızıldağ⁴, Mehmet Ali Ergün⁵

¹Department of Molecular Medicine, Institute of Health Sciences, Dokuz Eylül University, İzmir

²Department of Otorhinolaryngology, Karabük University Training and Research Hospital, Karabük

³Department of Biological Sciences, Middle East Technical University, Ankara

⁴Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Dokuz Eylül University, İzmir

⁵Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara

Objective: Branchio-oto-renal (BOR)

syndrome or branchio-otic (BO) syndrome is a common form of autosomal dominant syndromic hearing loss. The incidence is 1:40,000. EYA1 gene mutations on chromosome 8q are responsible from some BOR syndrome patients. Beside EYA1, also SIX1 and SIX5 gene mutations, chromosome microdeletions and microduplications were also reported.

Case: We report a three generation family with four affected individuals. In this study we analysed 21 exonic regions of EYA1 gene, 3 exon regions of SIX1 gene and 7 exon regions of SIX5 gene by direct sequencing the DNA of proband and his two sons. Sanger sequencing of the EYA1 gene revealed a heterozygote mutation in exon 12 NM_000503.6(EYA1):c.1140+4_1140+7delAGTT which was reported as uncertain significance in all patients. This variant is a deletion (4 bp) type, and cytogenetic location is on 8q13.3 (rs1554605968). We detect exonic polymorphism (rs2014377) in exon 3 of SIX5 gene from the samples of proband and his two sons. The DNA sequencing of the exon 1 and 2 of SIX1 gene were normal.

Conclusion: This sequence change falls in intron 12 of the EYA1 gene and does not directly change the encoded amino acid sequence of the EYA1 protein, but it affects a nucleotide within the consensus splice site of the intron. This variant reported to be segregated with hearing loss and preauricular pits in a single family. Our family is the second case with this EYA1 variant according to this data. In conclusion although the family demonstrates an uncertain significant mutation, it has the syndromic features of the disease and have segregation so these mutations may point the clinic features of the BOR syndrome.



PS – 100 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Dental adezivlerin fare fibroblastları üzerindeki sitotoksitesinin gerçek zamanlı değerlendirilmesi

Fatma Funda Kaya Demirsoy¹, Gülbike Demirel², Özgür Irmak³

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Sistem Biyolojisi İleri Araştırma Birimi

²Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı

³Eskişehir Osmangazi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı

Amaç: Bu çalışmanın amacı dental adezivlerin sitotoksitesinin gerçek zamanlı ve sürekli hücre canlılığını izleyerek değerlendirmektir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada altı adet dental adeziv [Gluma Bond Universal(GBU), Prime&Bond Universal(PBU), Clearfil Universal Bond Quick(CUB), All-Bond Universal(ABU), G-premio bond(GPB) Single Bond Universal(SBU)] kullanılmıştır. Her bir adezivden 100 µl polimerize edilmiş ve 37 °C, 24 saat kültür ortamında bekletilerek ekstraktları hazırlanmıştır. Ünsel adezivlerin sitotoksik etkilerini incelemek için L-929 (ATCC CCL-1) fare fibroblast hücre hattı ile 8 kuyucuklu e-platelere 5 tekrarlı olarak 25000 hücre/300µl/kuyucuk miktarda hücre ekimi yapılmıştır. Hücreler, %10 fetal sığır serum içeren ve 100 U/mL penisilin, 100 µg/mL streptomisin eklenmiş DMEM besiyerinde, gaz yoğunluğu %5 CO₂, sıcaklığı 37 °C olan inkübatörde idame ettirilmiştir. Hücre proliferasyon analizi için Icelligence (Real-Time Cell Analyzer) kullanılmış 24. saatte hazırlanan ekstraktların farklı dilüsyonları (1:1, 1:2 ve 1:10) e-platelere ilave edilerek her 30 dakikada bir veri alınmış ve 72 saat süreyle izlenmiştir. Ekstrakt eklenmeyen hücreler kontrol olarak kullanılmıştır. Proliferasyon deneyinin sonuçları Kruskal Wallis H ve çoklu karşılaştırmalar için Mann Whitney U testleri kullanılarak 0.05 anlamlılık düzeyinde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Hücre canlılığı sonuçları, negatif kontrol hücreleri %100 olarak kabul edilerek normalize edilmiştir. Dilue edilmeyen ekstraktlar için, 24 saatin sonunda GBU için hücre canlılığı %43'e düşmüştür ve bu sonuç diğer test edilen adezivlerden istatistiksel olarak anlamlı biçimde azdır (p<0.05). 1:2 oranında dilue edilen ekstraktlar için tüm zaman aralıklarında PBU en sitotoksik adezivdir (p<0.05). 72. Saatin sonunda 1:2 oranında dilue edilen ekstraktlar içerisinde SBU (%84) en az sitotoksik olanıdır (p<0.05). 1:10 oranında dilue edilen ekstraktlar içerisinde, 24. Saatin sonunda PBU ve GBU için hücre canlılığı sırasıyla %75 ve %65'e düşmüştür bu sonuç diğer test edilen adezivlerden istatistiksel olarak anlamlı biçimde azdır (p<0.05)(Tablo1)(Resim1).

Sonuç: Test edilen tüm dental adezivler, kimyasal bileşenlerine ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak farklı seviyelerde sitotoksik özellik sergilemişlerdir.

Real-time cytotoxicity evaluation of dental adhesives on mouse fibroblast cells

Fatma Funda Kaya Demirsoy¹, Gülbike Demirel², Özgür Irmak³

¹Ankara University Biotechnology Institute Systems Biotechnology Advanced Research Unit

²Ankara University Faculty of Dentistry Department of Restorative Dentistry

³Eskişehir Osmangazi University Faculty of Dentistry Department of Restorative Dentistry

Objective: The aim of this study was to evaluate the of cytotoxicity universal adhesives, with real-time and continuous monitoring of cell vitality.

Materials-Methods: Six brands of universal adhesives [Gluma Bond Universal(GBU), Prime&Bond Universal(PBU)), Clearfil Universal Bond Quick(CUB), All-Bond Universal(ABU), G-premio bond(GPB) Single Bond Universal(SBU)] were included in the study. 100 µl of each adhesive was cured and eluted with culture medium at 37 °C for 24 h. L-929 (ATCC CCL-1) mouse fibroblast cell lines were seeded into the wells of a 8 well microtiter E-plate with a concentration of 25000 cells/300 µl/well in 5 replicates. Cells were maintained in tissue culture flasks in DMEM supplemented with 10% FBS (Fetal Bovine Serum) containing Penicillin (100 Units/ml) and Streptomycin (100 µg/ml) in presence of 5% CO₂ at 37°C. Cell proliferation analysis was performed by using Icelligence (Real-Time Cell Analyzer) after the addition of extracts at varying dilutions (1:1, 1:2 and 1:10) at 24h and proliferation were monitored every 30min for 72h. Untreated cells were set as the negative control. Kruskal Wallis-H and Mann Whitney-U multiple comparison tests were used to analyze the results from the proliferation experiments (α=0.05).

Results: Cell viability results were normalized against the untreated cells, which were set as the negative control with 100% cell viability. For undiluted extracts at 24h GBU significantly reduced the cell viability to 43% (p<0.05). PBU was the most cytotoxic adhesive at all time intervals, for 1:2 diluted extract (p<0.05). SBU (84%) was the least cytotoxic, at end 72 h for 1:2 diluted extract(p<0.05). For 1:10 diluted extracts at 24 h PBU and GBU significantly reduced the cell viability to 75% and 65%(p<0.05)(Table 1)(Figure 1).

Conclusion: All the tested universal adhesives were found cytotoxic on L-929 cells, but the extent of the effects varied between the materials depending on chemical composition and extract concentrations.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 100 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Resim 1, Figure 1



1:1, 1:2, 1:10 dileden adeziv ekstraktlarının L929 hücrelerinin adezyonu ve proliferasyonuna etkisinin dinamik görüntülenmesi. (Kısaltmalar: GBU; Gluma Bond Universal, PBU; Prime&Bond Universal, CUB: Clearfil Universal Bond Quick ABU: All-Bond Universal, GPB: G-premio bond, SBU: Single Bond Universal, NC: Negative Control). Dynamic monitoring of treated with 1:1, 1:2, 1:10 diluted adhesive extracts in cultured L929 cells adhesion and cell proliferation. (Abbreviations: GBU; Gluma Bond Universal, PBU; Prime&Bond Universal, CUB: Clearfil Universal Bond Quick ABU: All-Bond Universal, GPB: G-premio bond, SBU: Single Bond Universal, NC: Negative Control).

Tablo1

Table 1

Zaman	Universal adezivlerin sitotoksitesisi (Dilue edilmemiş ekstraktlar) (En çok sitotoksik olandan en az sitotoksik olana doğru)
24.saat	GBU > ABU > PBU > CUB = GPB = SBU > Kontrol
48.saat	GPB = ABU = PBU > GBU > CUB = SBU > Kontrol
72.saat	GPB = ABU = PBU > GBU > CUB > SBU > Kontrol
Zaman	Universal adezivlerin sitotoksitesisi (1:2 dilue edilmiş ekstraktlar) (En çok sitotoksik olandan en az sitotoksik olana doğru)
24.saat	PBU > GPB = GBU > ABU > CUB = SBU = Kontrol
48.saat	PBU > GPB > GBU > ABU > CUB = SBU = Kontrol
72.saat	PBU > GPB > GBU > ABU = CUB > SBU > Kontrol
Zaman	Universal adezivlerin sitotoksitesisi (1:10 dilue edilmiş ekstraktlar) (En çok sitotoksik olandan en az sitotoksik olana doğru)
24.saat	PBU = GBU > CUB > GPB = ABU = SBU = Kontrol
48.saat	PBU > GBU > CUB > GPB = ABU = SBU = Kontrol
72.saat	PBU > GBU > CUB = ABU > GPB = SBU > Kontrol

Test edilen adeziv materyallerin istatistiksel analizi. Kruskal Wallis H ve Mann Whitney U çoklu karşılaştırma testi sonuçları. (Kısaltmalar: GBU; Gluma Bond Universal, PBU; Prime&Bond Universal, CUB: Clearfil Universal Bond Quick ABU: All-Bond Universal, GPB: G-premio bond, SBU: Single Bond Universal) Statistical analysis of cytotoxicity of tested adhesive materials. Results of Kruskal Wallis H and Mann Whitney U multiple comparison tests ($\alpha=0.05$). (Abbreviations: GBU; Gluma Bond Universal, PBU; Prime&Bond Universal, CUB: Clearfil Universal Bond Quick ABU: All-Bond Universal, GPB: G-premio bond, SBU: Single Bond Universal)



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 101 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Endometriomalı Hastaların Ektopik ve Ötopik Dokuda Glycodelin mRNA ekspresyonlarının Belirlenmesi

Khayala Rasulova¹, Aygun Akberova³, Berrin Acar³, Sefa Kızıldağ², Melek Pehlivan⁴

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

²Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

³Dokuz Eylül Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

⁴Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Programı / Katip Çelebi Üniversitesi

Amaç: Endometrioma, uterus dışında özellikle iç organların ve karın zarının üzerinde endometrial gland ve stromanın ektopik olarak bulunmasından kaynaklanan bir hastalıktır. Çalışmamızda endometriomalı kadınların ektopik ve ötopik endometrium dokularının Glikodelin mRNA ekspresyon seviyesi ile endometrioma olmayan kadınların endometrium dokularının Glikodelin mRNA ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamıza 26-45 yaş arası laparaskopi ve laparotomi sırasında tanı alan, histopatolojik olarak tanısı doğrulanan endometrioma tanılı 19 hasta ve 7 kontrol grubu dahil edildi. Endometriomalı kadınların ektopik ve ötopik endometrium dokuları ile kontrol grubu endometrium dokularının Glikodelin mRNA ekspresyonu Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Glikodelin mRNA ekspresyon seviyeleri endometrioma olmayan kadınların normal endometrium dokularında 0.624, endometriomalı kadınların ötopik endometrium dokularında 0.344, endometriomalı kadınların ektopik endometrium dokularında ise 3.096 olarak saptandı.

Sonuç: Endometriomalı hastaların ektopik endometrium dokularında Glikodelin mRNA ekspresyonunun, hastanın ötopik endometrium dokusuna ve kontrol grubu endometrium Glikodelin mRNA ekspresyonuna göre daha fazla olduğu saptandı. Ayrıca hastaların demografik özellikleri; yaş, gravida, vücut kitle indeksi açısından fark gözlenmedi. Dismenore ve Kronik Pelvik ağrı şikayeti endometriomalı kadınlarda endometrioma olmayan kadınlara kıyasla daha fazla olduğu gözlemlendi. Disparoni şikayetinde ise herhangi fark saptanmadı. Tartışma: Bu çalışmada endometriomalı kadınların ektopik ve ötopik endometrium dokuları ile endometrioma olmayan kadınların endometrial dokularını karşılaştırılarak ektopik endometrium dokularında Glikodelin mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Glikodelin genine etki eden faktörleri kapsamlı araştırarak endometrioma hastalığının tedavisine katkı sağlanabileceği düşünülmektedir.

The Detection of Glycodelin mRNA expression in the Ectopic and Eutopic Tissues with Endometriosis Patients

Khayala Rasulova¹, Aygun Akberova³, Berrin Acar³, Sefa Kızıldağ², Melek Pehlivan⁴

¹Dokuz Eylül University, Health Sciences Institute, Department of Medical Biology and Genetics

²Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Basic Medical Sciences Department of Medical Biology

³Dokuz Eylül University Gynecology and Obstetrics

⁴Vocational School of Health Services, Medical Laboratory Program / Katip Çelebi University

Objective: Endometriosis is a disease except of the uterus, it is caused by the ectopic presence of the endometrial gland and especially of the stroma on the internal organs and abdominal membrane. We aimed to determine the level of glycodelin mRNA expression in ectopic and eutopic endometrium tissues of women with endometriosis, by comparing endometrium tissues with Glycodelin mRNA expression level in women without endometriosis.

Materials-Methods: This study included 19 patients diagnosed with laparoscopy and laparotomy between the ages of 26-45 years, as well as patients with diagnosed endometriosis as histopathology and also 7 control groups. Glycodelin mRNA expression of endometrial tissues of ectopic and eutopic endometrium tissues of endometriosis women and of control group tissues were compared with each other and also with Real Time Polymerase Chain Reaction: Glycodelin mRNA expression levels were 0.624 in normal endometrial tissue of women without endometrioma, 0.344 in eutopic endometrial tissue of women with endometrioma, and 3.096 in ectopic endometrial tissue of women with endometrioma.

Results: Glycodelin mRNA expression in ectopic endometrium tissues of patients with endometriosis were found out to be higher than eutopic endometrium tissue of the patient and endometrium Glycodelin mRNA expression of the control group. Besides, there was no difference in demographic characteristics of patients such as terms of age, gravida, body mass index. Dysmenorrhea and KPA scores were found out to be higher in women with endometriosis in comparison to women without endometriosis. However, there was no difference in disparoni complaints.

Conclusion: In this study, the expression of Glycodelin mRNA in ectopic endometrium tissues was shown the increased in comparison to endometrial tissues of ectopic and eutopic endometrium tissues with those of endometriosis women. Glycodelin can contribute to the treatment of endometriosis by investigating the factors that affect the gene more extensively.



PS – 102 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

İntestinal mikrobiyota analizinin yaygın fonksiyonel gastrointestinal bozuklukların tedavisindeki etkisi

Deniz Sünnetçi Akkoyunlu¹, Altay Çelebi², Bilge Dursun¹, Nurhan Külçü¹, Naci Çine¹, Sadettin Hülagü², Seda Eren Keskin¹, Hakan Savlı¹

¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Gastroenteroloji Bölümü, Kocaeli

Amaç: İnsan gastrointestinal (Gİ) mikrobiyotası vücutta kolonize olan mikroorganizmaların %70'inden fazlasını barındırmaktadır. Gİ floranın dengede olmasının bağırsak fonksiyonunun düzenlenmesinde rol aldığı bilinmektedir. Bu dengenin bozulması (disbiyozis) sonucunda yaygın fonksiyonel gastrointestinal bozukluklar (FGİB) ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada, laboratuvarımıza FGİ bozukluğu nedeniyle başvuran hastaların, mikrobiyota profilleri, ilgili bakterilerin miktarları ve genel Gİ sağlık durumları değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, ilgili yazılımlar ile kombine edilerek hastalar için bireysel tedavi ve beslenme modelleri tanımlanmıştır. Yaptığımız çalışma mikrobiyota analizlerinin ve hasta odaklı diyet/probiyotik uygulanmasının FGİB tedavisi üzerine etkinliğinin araştırılmasını amaçlamaktadır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada, Temmuz 2018-Şubat 2019 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Gastroenteroloji Bölümü tarafından Roma IV tanı kriterlerine göre değerlendirilip IBS (%10), fonksiyonel dispepsi (%35), fonksiyonel diyare (%5), fonksiyonel karın şişkinliği (%40) ve non-spesifik FGİB (%10) tanısı ile Tıbbi Genetik Anabilim dalı laboratuvarına yönlendirilen 20 hastada intestinal mikrobiyota analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bakteriyel genomik DNA örneklerinde 16S-23S rDNA fragman analizleri yapılarak Actinobacteria, Firmicutes, Fusobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes ve Proteobacteria filumları taranmıştır. Bu filumlar içerisinde tespit edilen bakteri türlerinin miktar tayinleri real-time PCR yöntemi ile yapılmıştır. Hastaların malabsorpsiyon/inflamasyon, sindirim bozukluğu, mukozal bağışıklığının belirlenmesinde ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular: Mikrobiyota analizlerinde hastaların tümünde değişen disbiyozis indeksine rastlandı. Hastalara, disbiyozise neden olan bakteri türlerine göre tedaviye yönelik diyet/probiyotik önerileri oluşturulmuştur. Tedavide hastaların %17'sine diyet, %17'sine probiyotik, %33'üne hem diyet hem probiyotik uygulanmıştır. Önerilen beslenme modeli ve probiyotik tedavisi sonucunda hastaların %80'inde mevcut şikayetlerin azaldığı/tamamen ortadan kaybolduğu saptanmıştır.

Sonuç: İntestinal mikrobiyota analizleri, bireye özgü mikrobiyom profili ortaya koyması, kişisel diyet ve/veya

probiyotik önerisinde bulunabilmesi ile FGİB teşhisi ve tedavisinde kullanılan etkili bir yöntemdir.

Gut microbiota analysis is effective in treatment of common functional gastrointestinal disorders

Deniz Sünnetçi Akkoyunlu¹, Altay Çelebi², Bilge Dursun¹, Nurhan Külçü¹, Naci Çine¹, Sadettin Hülagü², Seda Eren Keskin¹, Hakan Savlı¹

¹Medical Genetics Department, Faculty of Medicine, Kocaeli University, Kocaeli, Turkey

²Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kocaeli University, Kocaeli, Turkey

Objective: The human gastrointestinal (GI) microbiota consisting of symbiotic microorganisms, contains more than 70% of the colonized microorganisms in the body. Stabilization of GI flora is known to play a role in the regulation of intestinal function. Distruption of the stabilization (dysbiosis) results in common functional gastrointestinal disorders (FGIDs). In this retrospective study, microbiota profiles, amounts of bacteria and general GI conditions of patients with FGIDs were investigated. Personal therapy and nutrition models for patients were described after combining obtained data with relative softwares. Our study aims to investigate the therapeutic effects of microbiota analysis and patient oriented dietary/probiotic applications on patients with FGID.

Materials-Methods: In this study, gut microbiota analysis was performed on 20 patients evaluated by the Department of Gastroenterology of Kocaeli University according to Rome IV diagnostic criteria between July 2018 and February 2019 and referred to the Department of Medical Genetics with the diagnosis of IBS (10%), functional dyspepsia (35%), functional diarrhea (5%), functional abdominal bloating (40%), and non-specific FGID (10%). Bacterial genomic DNA samples obtained from the patients were subjected to 16S-23S rDNA fragment analysis for detection of Actinobacteria, Firmicutes, Fusobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes and Proteobacteria phla. The amount of bacteria species were measured by real-time PCR. The malabsorption/inflammation, digestive disorders, and mucosal immunity were investigated by ELISA.

Results: Microbiota analysis revealed a variable dysbiosis index in all patients. Therapeutic dietary/probiotic recommendations were prepared for patients considering emergent bacterial species causing dysbiosis. 17% of the patients implemented to microbiota analysis treated with probiotics, 17% treated with diet, and 33% treated with both. As a result of the



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



recommended nutrition model and probiotic therapy,
80% of the patients declared reduction/complete
disappearance of complaints.

Conclusion: Gut microbiota analysis is an effective
method for the diagnosis and treatment of FGID for its
capability of providing microbiome profile and
suggesting personal dietary models/probiotics.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 104 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Alfa talaseminin moleküler tanısında direkt sekans yöntemi: revize metodoloji

İşıl Ezgi Eryılmaz¹, Birol Baytan², Ufuk Ünal¹, Ecem Efendi¹, Havva Tezcan¹, Gülşah Çeçener¹, Ünal Egeli¹, Melike Sezgin Evim³, Berrin Tunca¹, Adalet Meral Güneş³

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa

²Emsey Hospital, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bölümü, İstanbul

³Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Bursa

Alfa (α) talasemi, klinik fenotipi değişkenlik gösterebilen mikrositik hipokromik anemi ile karakterize yaygın otozomal resesif bir hastalıktır. Hastalık, sıklıkla hemoglobinin α -zincirini kodlayan *HBA1* ve *HBA2* genlerindeki büyük delesyonlardan ve daha nadir olarak da aynı genlerdeki delesyon dışı nokta mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. Hastalığın moleküler tanısında büyük delesyonları belirlemeye yönelik optimize yöntemler mevcutken popülasyon bazlı delesyon dışı nokta mutasyonların belirlenmesi *HBA1* ve *HBA2* genlerinin %96 oranında dizi homolojisine sahip olması ve guanin/sitozin içeriklerinin fazla olması nedeniyle zordur. Bu nedenle *HBA1* ve *HBA2* genlerinde standart yöntemler ile sekans analizi başarılı sonuçlar sunmamaktadır. Yeni nesil sekans teknolojileri ise dizi homolojisi kaynaklı zorlukları aşmakta yetersiz kalmaktadır. Laboratuvarımızda nested polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak *HBA1* ve *HBA2* genlerinin iki parçada Sanger sekans analizini mümkün kılan etkin bir yöntemin revizyonu ve optimizasyonu sağlanmıştır. Bu yöntemde birinci PCR'da *HBA1* ve *HBA2* genleri etiketli primer çiftleri ile ayrı olarak tek parça şeklinde amplifiye edilmiştir. İkinci PCR'da ise *HBA1* ve *HBA2* gen bölgelerinden ilk PCR'da elde edilen ürünlerin etiketli primerler ve universal sekans primerleri ile birbirinden ayrımı sağlanarak 2 parçalı kalıplar (*HBA1A&HBA1B* ve *HBA2A&HBA2B*) sekans reaksiyonu için hazır hale getirilmiştir (Şekil 1). Betain kullanılarak gerçekleştirilen sekans reaksiyonu sonrası floresan işaretlenen kalıpların kapiller elektroforez sisteminde sekans işlemi tamamlanmıştır. Genlerin sekansı, insan genomundaki referansı kontrol alınarak analiz edilmiştir. Laboratuvarımızda optimizasyonunu sağladığımız Sanger yöntemi ile *HBA1* & *HBA2* direkt sekans analizi, bir sonraki kuşakta olumsuz sonuçlara neden olabilecek talasemi taşıyıcısı bireylerde delesyon dışı mutasyonların belirlenmesinde ve hastalığın klinik seyrinin öngörülmesinde uygun maliyetli, güvenilir ve hızlı bir seçenek sunmaktadır.

Direct sequence method for molecular diagnosis of alpha thalassemia: revised methodology

İşıl Ezgi Eryılmaz¹, Birol Baytan², Ufuk Ünal¹, Ecem Efendi¹, Havva Tezcan¹, Gülşah Çeçener¹, Ünal Egeli¹, Melike Sezgin Evim³, Berrin Tunca¹, Adalet Meral Güneş³

¹Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Bursa

²Emsey Hospital, Department of Pediatric Hematology and Oncology, İstanbul

³Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Hematology, Bursa

Alpha (α) thalassemia is a common autosomal recessive disorder characterized by microcytic hypochromic anemia with varying clinical phenotype. The disease is caused by large deletions and, more rarely, non-deletional mutations in the *HBA1* and *HBA2* genes encoding α -chain of hemoglobin. While there are optimized methods for detecting large deletions, population-based non-deletional point mutations are difficult to identify due to 96% sequence homology and high guanine/cytosine content of the *HBA1* and *HBA2*. Therefore, sequence analysis of *HBA1* and *HBA2* by standard methods does not provide successful results. Next generation sequencing technologies are also inadequate in overcoming these challenges. In our laboratory, an effective method using nested polymerase chain reaction (PCR) that enables Sanger sequence of *HBA1* and *HBA2* in two parts has been revised and optimized. In this method, the genes were amplified separately as only one fragment using tagged primers in the first PCR. In the second PCR, templates with two fragments (*HBA1A&HBA1B* and *HBA2A&HBA2B*) were prepared for sequence reaction by separating the products obtained from the first PCR with tagged primers and universal sequence primers (Figure1). After sequence reaction with betaine, sequencing of fluorescently labeled fragments was completed in a capillary electrophoresis system. Sequence of the genes was analyzed by checking the reference in the human genome. Direct sequence analysis with Sanger method, which is optimized in our laboratory, provides a cost-effective, reliable and rapid option for identifying non-deletional mutations in individuals carrying thalassemia traits that can cause adverse outcomes in offspring and predicting clinical course of the disease.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

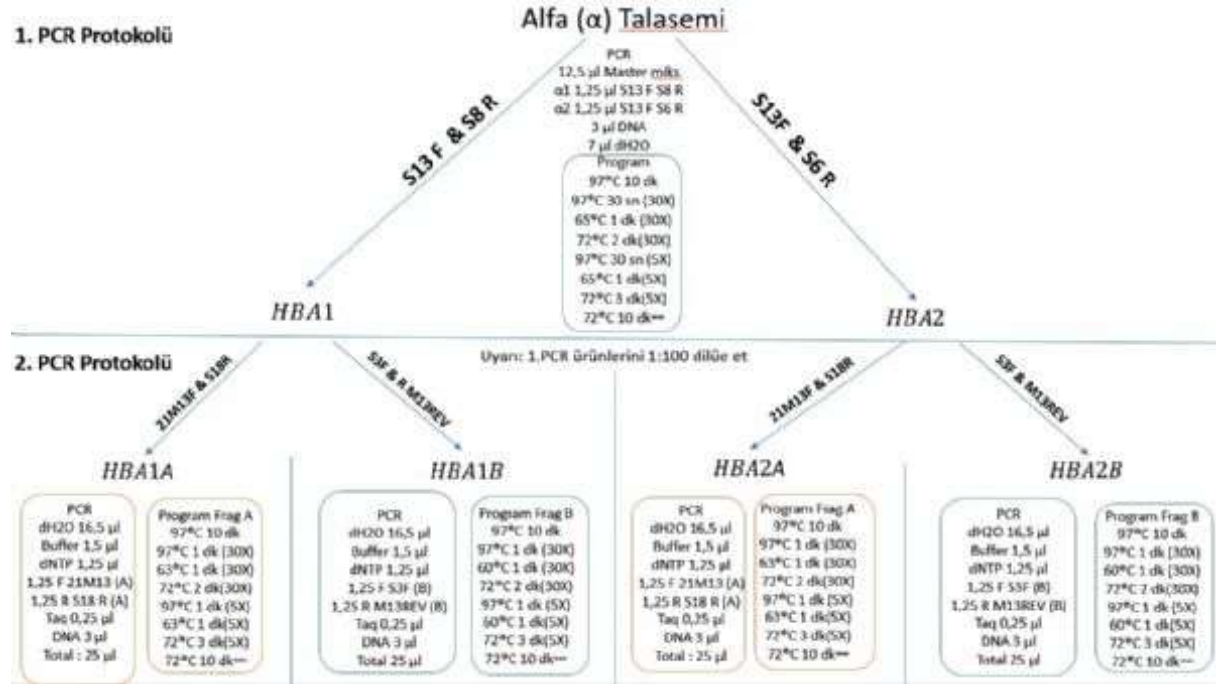
ULUSLARARASI KATILIMLI
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 104 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

HBA1 ve HBA2 genlerinde gerçekleştirilen PCR protokollerinin şematize sunumu
Schematic representation of PCR protocols performed in HBA1 and HBA2 genes

1. PCR Protokolü





TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 105 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

Sendromik olmayan zihinsel yetersizlikte tüm ekzom dizilemenin tanısallığı

Ekim Zihni Taşkiran¹, Beren Karaosmanoğlu¹, Can Koşukcu¹, Gizem Ürel Demir², Özlem Akgün Doğan², Pelin Özlem Şimşek Kiper², Mehmet Alikashiçoğlu¹, Koray Boduroğlu², Eda Gülen Utine²

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

Sendromik olmayan zihinsel yetersizliğin (SO-ZY) etiyolojik tanısı hala klinisyenler için tanısallık oluşturmaktadır. Günümüzde tarama için, kromozomal mikrodizini takiben tüm ekzom dizilemesi (WES) yapılmaktadır. SO-ZY hastalarında WES'in etiyolojik verimini araştırmak amacıyla ilişkisi olmayan 51 birey çalışılmıştır. Bu 51 hastadan 39'unda (%76,5) akrabalık vardır. Hastaların 21'inde (%41) epilepsi, 21'inde (%41) davranış problemleri, 19'unda (%37) ise otistik özellikler görülmüştür. WES analizi sonucunda 22 (%43,1) hastanın moleküler tanısı koyulabilmiştir. Bu genlerden bir kısmı, *HERC1*, *TBC1D7*, *LINS*, *HECW2*, *DEAF1*, *HNMT*, *DLG3* ve *NRXN1* gibi, sinir sistemi işlevine özgüdür. Diğerleri ise, *IARS*, *UBE3A*, *COQ4*, *TAF1*, *AGTR2*, *SETBP1*, *ARV1*, *ZC4H2*, *KAT6A*, *ASXL3*, *THOC6*, *HNRNP2*, *TUBA8* ve *KIF1A* gibi, çeşitli temel hücresel süreçlerde rol oynamaktadır. On dokuz ailede (%84,6) akraba evliliği varken, saptanan genlerin sadece 11'i (%50) otozomal resesif fenotiplere yol açmaktadır. Bu kohorttan çıkan sonuca bakıldığında, resesif genlerin aslında SO-ZY'nin akraba evliliği olan ailelerinde bile aslında küçük bir grubunu oluşturduğu görülmüştür. Akraba evliliğinin yoğun olduğu toplumlarda resesif kalıtımı göz önünde bulundurmak avantajlı bir strateji gibi görünse de, otozomal dominant ifade olan genlerdeki de novo mutasyonlar, akraba evliliği olan ailelerdeki hastalarda, bile SO-ZY hastalarının majör bir etiyolojik grubu temsil etmektedir.

Diagnostic yield of whole-exome sequencing in non-syndromic intellectual disability

Ekim Zihni Taşkiran¹, Beren Karaosmanoğlu¹, Can Koşukcu¹, Gizem Ürel Demir², Özlem Akgün Doğan², Pelin Özlem Şimşek Kiper², Mehmet Alikashiçoğlu¹, Koray Boduroğlu², Eda Gülen Utine²

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Ankara

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Department of Pediatric Genetics, Ankara

Etiological diagnosis in non-syndromic intellectual disability (NSID) still poses a diagnostic challenge to clinicians. Screening is currently achieved by chromosomal microarrays followed by whole-exome sequencing (WES). In search for the etiological yield of WES in patients with NSID, 51 unrelated patients were studied. Among 51 patients, 39 (76.5%) were from consanguineous unions. Epilepsy was present in 21 (41%), behavioral problems in 21 (41%), autistic features in 19 (37%). WES analysis resulted in molecular diagnosis in 22 patients (43.1%). Some of the genes were specific for nervous system functioning, like *HERC1*, *TBC1D7*, *LINS*, *HECW2*, *DEAF1*, *HNMT*, *DLG3* and *NRXN1*. Others were ubiquitously expressed genes involved in fundamental cellular processes, like *IARS*, *UBE3A*, *COQ4*, *TAF1*, *AGTR2*, *SETBP1*, *ARV1*, *ZC4H2*, *KAT6A*, *ASXL3*, *THOC6*, *HNRNP2*, *TUBA8* and *KIF1A*. Nineteen families (86.4%) were consanguineously married, however, only 11 (50%) of detected genes caused autosomal recessive phenotypes. This cohort suggests that recessive genes probably represent an actually smaller subgroup of NSID, even among families with consanguinity. Although in societies with high consanguinity rates, first considering the recessive inheritance seems to be an advantageous strategy, de novo mutations in autosomal dominantly expressed genes represent the major etiological group in patients with NSID, even among those patients from consanguineous families.



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

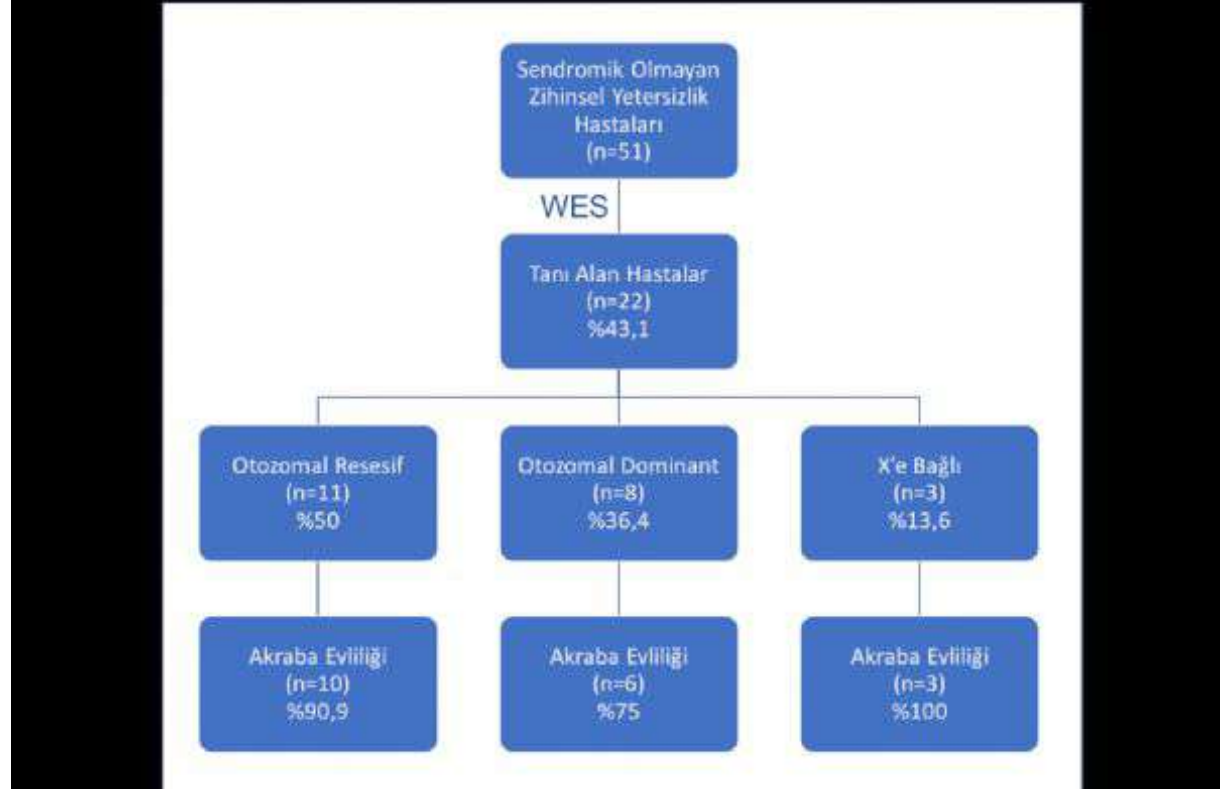
27-30 Ekim 2019 La Blanche Island Otel BODRUM



PS – 105 POSTER BİLDİRİ / DİĞER

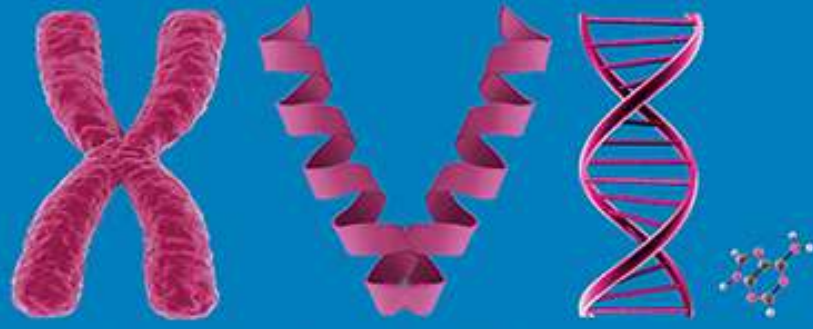
Şekilsel özet

Graphical abstract



Çalışmanın şekilsel özeti verilmiştir. WES: tüm ekzom dizileme
Graphical abstract of the study. WES: whole-exome sequencing

Sumulan bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ve Pediatrik Genetik bölümlerinin ortaklaşa çalışması ile 2015-2018 yılları arasında yapılmış olan Hacettepe Ekzom Projesi'ndeki sendromik olmayan zihinsel yetersizlik hastalarından oluşan kohortun incelenmesinden oluşmaktadır. Tüm ekzom dizileme analizi ile tanı alamayan hastaların tanı alması ve tanı yüzdesinin 43,1 gibi yüksek bir orana çıkması çalışmanın önemli bir sonucudur. Tüm dünyadaki gelişmeleri takip eden bölümümüz Türkiye'de de bu alana öncülük etmektedir. Projemiz Hacettepe Üniversitesi tarafından desteklenmiştir (TAY 2015-7335).



TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

27-30 *Ekim* 2019
La Blanche Island Otel **BODRUM**

www.tbgk2019.org

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

ConPlus Kongre Organizasyon ve Danışmanlık Hizmetleri
Mera Çıkmazı Sok. No:29 Çubuklu – Beykoz /İstanbul
Tel: +90 216 541 00 54 Faks: +90 216 541 01 08
E-Mail: info@conplus.org

